Band VII Heft 1/2 **Biosnummer** Juni 1919

Zeitschrift für technische Biologie

Neue Folge der Zeitschrift für Gärungsphysioiogie

unter Mitwirkung von hervorragenden Fachgenossen,
deren namentliche Anführung vorläufig noch zurückgestellt ist,

herausgegeben von

Professor Dr. Paul Lindner-Berlin

Inhalt:

LEIPZIG
Verlag von Gebrüder Borntraeger
1919

Die „Zeitschrift für technische Biologie“ verfolgt als allgemeines Ziel die Vermittlung einer möglichst genauen Kenntnis der in technischen Betrieben wirksamen Lebewesen, insbesondere der mikroskopischen, und der Art ihrer Betätigung. Sie erscheint in zwanglosen Heften, von denen vier bis fünf einen Band von etwa 20 Druckbogen mit vielen Abbildungen und Tafeln bilden. Der Preis des im Erscheinen begriffenen Bandes beträgt 30 Mk.

Manuskripte, zur Besprechung bestimmte Bücher und Separata sowie alle auf die Redaktion bezüglichen Anfragen und Mitteilungen sind an

Professor Dr. P. Lindner in Berlin N 65, Seestraße 13
Institut für Gärungsgewerbe

zu senden, alle geschäftlichen Mitteilungen an die Verlagsbuchhandlung

Gebrüder Borntraeger in Berlin W 35,
Schöneberger Ufer 12a.

Die Originalabhandlungen und kleinen Mitteilungen werden mit 40 M. für den Druckbogen honoriert. Bei umfangreicheren Originalarbeiten bleiben die 4 Bogen überschreitenden Teile honorarfrei. Für Dissertationen wird in der Regel kein Honorar gezahlt.

Die Originalarbeiten und kleinen Mitteilungen erscheinen in deutscher oder englischer oder französischer Sprache. Die Referate werden nur in deutscher Sprache gebracht.

Die Zahlung der Honorare erfolgt stets nach Ausgabe eines Heftes, kleinere Beträge unter 10 M. werden am Schlusse eines Bandes zusammengerechnet und angewiesen.

Die Verfasser der Originalabhandlungen erhalten 40 Sonderabzüge kostenlos (ohne Umdruck und Neupaginierung); weitere Abzüge gegen Erstattung der Kosten. Von den kleinen Mitteilungen werden nur auf besonderen Wunsch und auf Kosten des Verfassers Sonderabzüge angefertigt.

Die Manuskripte sind druckfertig abzuliefern. Sollten durch die Schuld eines Mitarbeiters besonders hohe Autorkorrekturkosten entstehen, so ist die Verlagsbuchhandlung berechtigt, die über 7 M. pro Bogen hinausgehenden Kosten dem betreffenden Verfasser in Rechnung zu stellen.

Geleitwort

zum ersten Heft

der Zeitschrift für technische Biologie

Durch die neue Namensgebung wird schon angedeutet, daß auf die Nutzbarmachung der Wissenschaft für das technische Gewerbe besonderes Gewicht gelegt wird. In einer Hinsicht ist der Rahmen der Zeitschrift erheblich erweitert, indem neue Richtungen der technischen Biologie, die mit Gärung nichts mehr zu tun haben, aufgenommen werden, andererseits ist aber durch Betonung der „technischen" Biologie wieder angedeutet eine besondere Rücksichtnahme auf das technisch Wichtige, also eine gewisse Einschränkung.

Ist es auf der einen Seite der Wissenschaftler, an den sich die Zeitschrift wendet, um ihm Anregungen zu praktisch nutzbaren Untersuchungen zu geben beziehungsweise sich solche von ihm geben zu lassen, so sprechen wir auf der anderen Seite zu dem Praktiker, um ihm wissenschaftliche Errungenschaften zu vermitteln und neue Wege anzudeuten, auf denen die Technik sich versuchen sollte. Wem sie nun mehr dienen wird, ist nicht leicht zu sagen; in jedem Falle aber wird der Herausgeber bemüht sein, beide Kategorien von Lesern zu befriedigen, sie aber gleichzeitig beide anzuspornen zu gemeinsamer Förderung der technischen Gewerbe. Vor dem Kriege haben unsere Hochschullaboratorien nur vereinzelt sich um die Erfordernisse der Praxis gekümmert; der Krieg forderte dann aber gebieterisch die Beschäftigung mit den Tagesnöten und dem Nächstliegenden. So wird es noch geraume Zeit bleiben auch nach dem Friedensschluß; man wird vor allem nutzbare wissenschaftliche Arbeit leisten wollen.

Die technische Biologie hat während des Krieges neue bemerkenswerte Fortschritte gemacht — es sei nur erinnert an die Einspannung der Mikroben zur Milchsäure-, Zitronensäure-, Essigsäure-, Aceton-, Alkohol-, Glyzerin-, Fett- und Eiweißgewinnung, zur Brot-, Bier-, Wein-, Met-, Kefir-, Kumys-, Mazun-, Yoghurt-, Kwaß-, Teekwaß-, Butter-, Käsebereitung, zur Abwässerreinigung, Dungverarbeitung, zur Harnvergärung, zur Rötte der Faserpflanzen, zum Einsäuern von Futter- und Gemüsepflanzen, ihre Bekämpfung bei der Herstellung der Konserven, Marmeladen, Trockengemüse usw.

Die Flora der einzelnen Betriebe hat mit der Aufnahme neuer Fabrikationszweige weitgehende Veränderungen erfahren. Die Gebinde, Fässer und Flaschen, Korken bergen heut z. T. ganz andere Arten, die beim Umstellen in die alte Betriebsform sich geltend machen werden.

Die Abwehr des Ungeziefers ist zu einer vollendeten Technik gelangt und hat Einrichtungen größeren Stils und unglaubliche Ausgaben erfordert.

Die Friedensarbeit wird manche Lücken der Kriegsarbeit, die in der Hast und Überstürzung nicht ausgefüllt werden konnten, ausbessern, dann aber vor allem sich auf höchste Sparsamkeit im Betrieb einstellen müssen.

Es ist nun unter den obwaltenden Umständen angezeigt, die Leiter der biologischen Laboratorien unserer Hochschulen dringend zu bitten, den Doktoranden Aufgaben zu stellen, die den biologischen Betrieben unmittelbar oder mittelbar von Nutzen sein können. In dieser Hinsicht sei auf die Arbeit von Hans Naumann in diesem Heft hingewiesen, die zur Vertiefung unserer Kenntnisse wertvolle Beiträge liefert. Die Liste von Hefen in der Arbeit von mir und Toni Unger zeigt, daß lebendes Material genügend zur Verfügung steht zur Durchführung ähnlicher Arbeiten.

Auf die Bedeutung einer Kulturensammlung zum Zweck der Bestimmung in der Praxis aufgefundener Mikroben habe ich wiederholt hingewiesen; nur sie ermöglicht dem einzelnen Forscher, sich über die Neuheit der aufgefundenen Art schnellstens zu orientieren; ihr Vor-

handensein verpflichtet aber ihn auch, seine Kulturen nach Abschluß der Arbeit ihr zu überlassen. Bisher konnte man öfters erleben, daß Mikroben, über die Mitteilungen veröffentlicht wurden, bis zur Zeit des Erscheinens derselben nicht mehr aufbewahrt worden waren. Sollte eine Zentralsammelstelle für Kulturen nicht zustande kommen, so wird es empfehlenswert sein, daß jedes biologisches Laboratorium wenigstens für eine bestimmte Gruppe die Obhut übernimmt oder sich vorwiegend mit dieser einen Gruppe beschäftigt, auch wenn sie nicht die Sammlung selbst weiter führt. Es würde dies vorläufig den Vorteil bieten, daß jeder angehende Forscher, der sich für eine bestimmte Mikrobengruppe interessiert, in der betreffenden Obhutstelle auch die besten Auskünfte erhalten würde.

Die biologischen Gewerbe aber sollten zur Förderung der Kenntnis der technisch wichtigen Mikroben sich verpflichtet halten, sie angehende Forschungen bezw. die Obhutstellen mit Geldmitteln zu unterstützen oder solche Unterstützungen bei den Behörden zu beantragen.

Die vorliegende Zeitschrift wird es als ihre Aufgabe ansehen, die Männer der biologischen Wissenschaft und Praxis mit den jeweiligen Ergebnissen der Forschung auf dem Gebiet der technisch wichtigen Mikroben vertraut zu machen, erbittet und erwartet aber auch ihre hilfsbereite Mitarbeit.

Berlin, April 1919 **Paul Lindner**

Die Lebenstätigkeit von Sproßpilzen in mineralischen Nährlösungen

von

Hans Naumann

Einleitung

Die Aussaat einer einzigen Zelle in ein geeignetes Nährsubstrat, welches Stickstoff in organischer Bindungsform enthält, ist bekanntlich die Grundlage für die Reinzucht von Bier-, Wein-, Preß- und anderen Hefen. Die Entwicklung von einer einzeln ausgesäten Zelle ab erfolgt, wenn diese lebensfähig ist, durchaus normal. Es tritt reichliche Vermehrung, Gärung und Stickstoffassimilation ein.

Für die Industrie der Gärungsgewerbe gewinnt diese Tatsache zuerst Bedeutung durch Chr. Emil Hansen, Kopenhagen. Er führt durch seine Kulturmethoden von einer Zelle ab die Trennung der Rassen und ihre Reinkultur durch.

Ganz anders liegen die Verhältnisse bei Aussaat einzelner Hefenzellen in Nährsubstrate, welche den Stickstoff nur in anorganischer Form bieten, d. h. in mineralischen Nährsalzlösungen. Schon seit Pasteur ist auf diesem Gebiet gearbeitet worden (es handelt sich dabei meist um Versuche mit großen Aussaaten ohne genaue Angabe der Anzahl der ausgesäten Zellenzahl), ohne daß bis heute unsere Kenntnis darin abgeschlossen wurde.

In dieser Arbeit habe ich mir die Aufgabe gestellt, an der Erweiterung dieser Kenntnis zu arbeiten.

In mineralischen Nährlösungen, die Zucker als Kohlenstoffquelle enthalten, tritt bei Aussaat einer einzigen Zelle weder Vermehrung, Gärung noch Stickstoffumsatz ein.

Wildiers versucht diese Tatsache zu erklären durch den Mangel an „Bios“. Pringsheim zeigt, daß Hefen nach Angewöhnung an mineralische Nährlösungen, selbst wenn dieselben einzeln ausgesät

werden, zur Entwicklung gelangen. Aus der Literatur habe ich ferner bei Kossowicz (14) festgestellt, daß bei Aussaat einzelner Hefenzellen in mineralische Nährlösungen bei gleichzeitigem Wachstum von Schimmelpilzen oder Mycoderma Hefenwachstum eintritt. Neue Arbeiten von Lindet (27), Le dechet de la fermentation alcoolique, bezeichnen leicht assimilierbare Kohlenwasserstoffverbindungen als geeignet, den Hefezellen die Assimilation des Ammoniakstickstoffs zu erleichtern. — Dies ist in großen Zügen skizziert der heutige Stand.

Ehe ich nun zu meinen eigenen experimentellen Arbeiten übergehe, werde ich über meine umfassenden Literaturstudien berichten, die mir wertvolle Anregungen zur Bearbeitung dieses Gebietes lieferten.

Literatur

Als erster hat sich Pasteur (1) schon im Jahre 1858 mit der Frage des Wachstums der Hefezellen in mineralischen Nährlösungen beschäftigt. Er sprach das Gebiet als ein verworrenes an. Die von ihm zunächst aufgestellte Behauptung, daß anorganischer Stickstoff in Form von Ammoniumsalzen zur Ernährung und Entwicklung der Hefe geeignet sei, wurde bestätigt durch die Arbeiten von Duclaux (2). Hierbei möchte ich betonen, daß es sich bei den Pasteurschen und Duclauxschen Versuchen nur um große Aussaaten handelt. Die Notwendigkeit dieser Bedingung war ihnen jedoch noch unbekannt. Daher gelangte auch Pasteurs Behauptung, daß anorganischer Stickstoff in Form von Ammoniumsalzen zur Ernährung und Bildung der Hefe vollkommen ausreichend sei, zur allgemeinen Annahme.

Pasteur hatte ferner festgestellt, daß anorganischer Stickstoff weit weniger günstig sei für die Ernährung als organische Stickstoffgabe, ein Ergebnis, welches Mayer (3) und später Nägeli (4) 1879 bestätigten.

Im Jahre 1901 fand Wildiers (7), daß Hefen bei schwacher Aussaat in gezuckerten Nährlösungen, welche den Stickstoff in Form von Ammoniumsalzen enthalten, nur dann Vermehrung und Gärung zeigten, wenn eine gewisse chemische Substanz, von ihm „Bios“ genannt, in irgend einer Form zugesetzt wurde.

Wildiers charakterisierte das Bios als einen für die Entwicklung der Hefe unentbehrlichen Körper. Bios ist löslich in Wasser, unlöslich in absolutem Alkohol und Äther. In der Asche der Hefe findet sich

Bios nicht vor. Es ist nicht identisch mit Harnstoff, Asparagin, Leucin, Tyrosin, den Nukleinbasen Adenin und Guanin, Thymusnukleinsäure, Kreatin und denpeptischen und tryptischen Verdauungsprodukten chemisch reiner Albumosen.

Bios ist zu finden in Liebigs Fleischextrakt, in Handelspeptonen und in der Bierwürze. Bios ist ferner vorhanden im Hefewasser, und darauf ist die lebengebende Wirkung größerer Aussaaten nach Ansicht des Verfassers zurückzuführen.

Fernbach (8) tritt der Biostheorie gegenüber scharf kritisierend auf und sagt, Wildiers hätte sich, ehe er den Grund des Nichtwachsens der Hefen genau erforscht und veröffentlicht habe, davon überzeugen müssen, ob die von ihm verwendeten mineralischen Nährsalze und auch das destillierte Wasser frei von antiseptisch wirkenden Stoffen gewesen sei. Er wirft ferner die Frage auf: „War der benutzte Zucker rein?"

Auch Krieger (9) beschäftigt sich damit in seinem „Bericht über die Mitteilungen von Wildiers Betrachtungen", wobei er konstatiert, daß sie, falls sich dieselben bestätigen sollten, für die gesamte Physiologie von größter Bedeutung sein würden. Gleichzeitig macht er auf einen Widerspruch in Wildiers Schlußfolgerungen aufmerksam: Die Hefe bildet bei ihrer Vermehrung und bei der Gärung kein neues Bios. Dasselbe wird während der Gärung verbraucht, aber nicht neu gebildet. Der Grundgedanke der ganzen Wildiersschen Arbeit ist aber, daß eine Hefeabkochung „Bios" enthält. Dieser Widerspruch, sagt Krieger, harrt weiterer Aufklärung.

Ähnlich wie Fernbach beurteilt auch Windisch (10) die Vorgänge. Er zweifelt nicht an spezifischen Wirkungen kleiner und kleinster Mengen von Stoffen auf die Hefe, die imstande sind, eine Giftwirkung auszuüben und somit der Hefe in schwächster Aussaat eine Entwicklung unmöglich machen. Windisch denkt da in erster Linie an Spuren von Kupfersalzen, die dem destillierten Wasser und eventuell auch den mineralischen Salzen anhaften und aus kupfernen Destillierapparaten bezw. Gefäßen stammen könnten.

Amand (11) tritt als Anhänger der Biostheorie auf und versucht auf Grund von Versuchen nachzuweisen, daß das Bios nicht als Gegengift für etwaige das Wachstum der Hefe hemmende Stoffe aufzufassen ist, sondern nach Ausschaltung aller jener störenden Faktoren die einzige Substanz ist, welche der Hefe die Entwicklung ermögliche. Unklar wird das Bild nur dadurch, daß Amand behauptet, Bios würde von der Hefe verbraucht, ohne daß die Hefe selbst neues Bios erzeuge.

Er läßt Hefe in mit Bios versetzter mineralischer Nährlösung wachsen und versucht, ob das Filtrat neues Wachstum fördert. Dies ist nicht der Fall. Auch beim Kochen lieferte die Hefe kein Bios oder nur verschwindend wenig. — Hätte nun Amand noch einige Tage oder Wochen gewartet, so hätte er der Hefe bezw. der Flüssigkeit „das schönste Bios" in Form löslichen Eiweißstickstoffes entziehen können. —

Windisch (13) würdigt die Versuche Amands einer eingehenden Besprechung, ohne aber seine Übereinstimmung mit diesen Versuchen zu erklären.

Lindner (16) weist darauf hin, daß es sich bei den von Wildiers unter 8 angeführten Substanzen, u. a. Harnstoff und Pepsin-Pepton, um einen Irrtum handeln müß, wenn Wildiers die Behauptung aufrecht erhält, daß diese das Wachstum der Hefe nicht wie Bios zu fördern vermögen, denn nach Ansicht Lindners sind diese Stoffe geeignet, das Wachstum wesentlich zu unterstützen.

Kossowicz (14) ist nicht einverstanden mit den Behauptungen Wildiers. Verfasser widerlegt durch Versuche mit Einsaat viel geringerer Hefenmengen, als Wildiers sie anwendete, dessen Angabe, daß die Hefe zu ihrer Vermehrung neben Zucker (gereinigter Saccharose) andere organische Stoffe nötig habe, indem er eine bestimmte Anzahl Hefenzellen in eine mineralische Nährlösung einsäte und Wachstum fand. Allerdings beobachtete er dabei keine sichtbare Gärung, wohl aber wurde diese durch tägliches Wiegen der Gärflaschen festgestellt. Sobald außer dem Zucker noch andere organische Stoffe vorhanden sind, bemerkt Verfasser sichtbare Kohlensäureentwicklung.

Auch andere Organismen sind dazu imstande, der Hefe die hierzu nötigen organischen Stoffe zu bieten. Gleichzeitige Einsaat von Hefen und Mykoderma, auch Schimmelpilzen, bewirkt eine starke sichtbare Kohlensäureentwicklung. Sehr bemerkenswert ist dies Ergebnis, nach welchem diese Organismen als Produzenten von „Bios" auftreten. Kossowicz weist auf die mögliche Verwandtschaft des „Bios" mit dem Hardenschen Ko-Enzym hin, doch fehlen in dieser Beziehung nach Ansicht von Euler und Lindner die Anhaltspunkte.

Ich fasse zusammen: Kossowicz stellt fest, daß bei Aussaat einer einzigen Zelle in mineralischen Nährlösungen Vermehrung nicht eintritt. Er zeigte, daß in 21 von 22 Versuchen eine Entwicklung ausblieb, wenn nur eine Zelle in solche rohrzuckerhaltigen Nährlösungen eingeimpft wurde, welche ausschließlich anorganische Stickstoffverbindungen enthielten.

Bei Aussaat von einigen hundert Zellen in eine Nährlösung, die den Stickstoff in anorganischer Form enthält, tritt bei seinen Versuchen wohl Vermehrung, aber keine sichtbare Gärung ein. Als Erklärung für diese schwache Vermehrung führt Verfasser an, daß diese hervorgerufen sei infolge der in die Nährlösung mitgebrachten noch unbekannten Substanzen.

Große Hefenmengen, eine Million Zellen und mehr, zeigen sowohl Vermehrung als auch starke sichtbare Gärung.

Kossowicz war der erste, welcher darauf aufmerksam machte, daß die lebengebende Kraft des unbekannten „Bios“ gleichbedeutend sei mit der Einwirkung organischer Stickstoffverbindungen auf Hefekulturen in anorganischen Nährlösungen.

Henry (12) kann sich auf Grund seiner Ausführungen nicht mit den Beobachtungen Wildiers einverstanden erklären. Verfasser arbeitete mit folgenden Hefen: Rohrzuckerhefe aus dem Institut Pasteur, Hefe Logos, Hefe Burton, Berliner Rasse 2 und Saccharomyces Ludwigii, die er in 500 ccm mineralischer Nährlösung kultivierte, indem er 3 Tropfen einer Würzekultur obiger Hefen zusetzte. Die Hefen entwickelten sich und zeigten befriedigende Vermehrung. Wäre nun Wildiers Behauptung richtig, daß die Hefe bei ihrer Vermehrung selbst kein Bios erzeugt, sondern auf das Quantum angewiesen ist, welches mit eingebracht wurde, so dürfte bei schwacher Aussaat aus dieser mineralischen Nährlösung in frische mineralische Nährlösung keine Entwicklung erwartet werden, denn nach Wildiers und auch Amand verzehrt die Hefe das Bios. Verfasser fand aber das Gegenteil und erhielt eine rasche Entwicklung. Hier finde ich zum ersten Mal Übereinstimmung mit der Pringsheimschen Angewöhnungstheorie.

Zu erwähnen sind noch die Arbeiten von Chrzaszcz (17) über das Wachstum von Hefen in mineralischen Nährlösungen, die an und für sich interessant, aber ohne einen neuen Beitrag sind.

In Pringsheims Arbeit „Über die sogenannte Biosfrage und die Gewöhnung der Hefe an gezuckerte Nährsalzlösungen“ (18) beweist Verfasser durch ausführliche Versuche die Haltlosigkeit und die Widersprüche der Bios-Theorie. Pringsheim kann sich nicht der Ansicht Wildiers anschließen, daß bei Aussaat geringster Mengen von Hefen das Nichtwachsen nur in dem Mangel an Bios zu suchen sei.

Wenn bei größerer Einsaat Hefenentwicklung eintritt, so ist dies dadurch zu erklären, daß durch Absterben einer Anzahl von Zellen infolge Zerfall ihres Eiweißes organisch gebundene Nährstoffe in die

Lösung übergehen, die den überlebenden Zellen Wachstum und Vermehrung ermöglichen. Wir haben hier denselben Vorgang wie bei den Wildiersschen Versuchen, nur daß dieser „Bios“ in Form von Hefenwasser zusetzt.

Bei geringer Impfgabe ist die Menge des mitgebrachten Eiweißes zu gering, um anfängliches Wachstum möglich zu machen.

Pringsheim stellt fest, daß Hefe, welche zum erstenmal in mineralische Nährlösung eingebracht wird, trotz reichlicher Aussaat erst nach längerer Zeit Gärung zeigte. Wird nun aus dieser Nährlösung in frische mineralische Nährlösung übergeimpft, so stellt sich die Gärung schon nach wenigen Tagen ein. Es hatte also eine Angewöhnung stattgefunden. Solche durch mehrere Generationen vorbereitete Hefe säte Pringsheim einzeln nach dem Hansenschen Verdünnungsverfahren aus und fand von 10 Kölbchen, die geimpft wurden, 8 mit einem, 1 mit zwei und 1 mit keinem Hefefleck. Pringsheim beweist durch diese Versuche, daß es die Angewöhnung ist, welche der Hefe die Assimilation des Ammoniakstickstoffes ermöglicht und ihr zur Vermehrung verhilft.

Ide veröffentlicht in „Über Wildiers Bios“ gemeinsam mit Devloo ausgeführte Arbeiten (19). Nach seiner Überzeugung gibt es keinen Stoff, der wie Bios Entwicklung und Gärung von Hefezellen in mineralischen Nährlösungen fördert. Verfasser bezeichnet auf Grund der mit Devloo ausgeführten Versuche Bios als eine organische stickstoffhaltige Substanz. Er fand sie außer in den Quellen, die Wildiers angibt, noch im käuflichen „Lecithin pure“ der Firma Givaudan in Lyon, welches nach Hoppe-Seyler aus Eidottern bereitet wird.

Devloo führt seine Versuche aus, indem er 125 g mineralische Nährlösung nach Wildiers mit Hefe impft (ohne Angabe der Zellenzahl). Zwei bis drei Wochen hindurch beobachtet er einen minimalen Tagesverlust von 0,05—0,01 g CO_2. Setzt er dann eine sterile bioshaltige Flüssigkeit hinzu, so tritt nach 48 Stunden intensive Gärung ein, die auch Ausdruck im täglichen Gewichtsverlust findet; diesen notiert er in einem Falle mit 0,1, 0,5, 1,0, 0,55, 0,3 g usw.

Verfasser stellt als erstes Ziel seiner und seiner Schüler Arbeiten auf, Bios in reiner Form darzustellen und durch Chemiker näher zu charakterisieren.

Darüber sind inzwischen zehn Jahre vergangen, ohne daß es mir möglich war festzustellen, daß es Ide und seinen Schülern gelungen

wäre, die Wissenschaft in dieser Beziehung eine Bereicherung erfahren zu lassen.

Äußerst wertvolle Forschungen über die Stickstoffernährung der Hefen uud deren Stickstoffumsatz fand ich bei Pringsheim „Über die Stickstoffernährung der Hefe" (21). Als Stickstoffsubstanz zur Züchtung einer gärfähigen Hefe bezeichnet Verfasser u. a. Ammoniak in Form von Salzen. Diese Verbindungen sind uns chemisch in ihrer Zusammensetzung vollständig bekannt.

Nach Pringsheim steigt die Gärwirkung wachsender Hefe bei Zusatz von Pepton als Stickstoffquelle mit wachsender Stickstoffkonzentration. Bei Leucin, Asparagin und schwefelsaurem Ammoniak verringert sich die Gärwirkung mit steigender Stickstoffkonzentration der Nährlösung von einem Minimum der Stickstoffgabe an, das für die Ernährung der Zellen nicht mehr ausreicht. Mit wachsender Peptonkonzentration steigert sich auch die Zahl der geernteten Hefenzellen, analog der Steigerung der Gärwirkung. Bei Leucin, Asparagin und schwefelsaurem Ammoniak fällt die maximale Zahl der Hefenernte nicht mit höchster Stickstoffkonzentration zusammen. Der Stickstoffgehalt der Hefenernte ist von der Konzentration der Lösung an Stickstoff ziemlich nnabhängig — unabhängiger als der Stickstoffverbrauch der Hefe während der Gärung. Verfasser erklärt dies durch den Austritt von Stickstoff aus der Hefe während der Gärung, der bei Bestimmung des Verbrauches stets berücksichtigt werden muß. Dieser wird durch Berechnung ermittelt. Es wird zunächst der Rest-Ammoniakstickstoff der Lösung durch Destillation mit Magnesia bestimmt. Zieht man diesen von dem Stickstoffgehalt der Lösung ab, den man vor Ansetzen des Versuches feststellte, so hat man den Stickstoffverbrauch. Durch eine Kjeldahlbestimmung wird der Stickstoffgehalt der Hefe ermittelt. Addiert man nun diesen zu dem Rest-Ammoniakstickstoff der Lösung, so ist die Differenz zwischen der Summe und dem ursprünglichen Stickstoffgehalt der Lösung als der von der Hefe ausgeschiedene organische Stickstoff anzusehen.

Bei geringer Hefeaussaat kann der Stickstoffverbrauch nach abgeschlossener Gärung den Stickstoffgehalt der Hefe um ein Mehrfaches übertreffen. Dies ist das Verhältnis von Stickstoffumsatz zu Stickstoffansatz. Zwischen Stickstoffverbrauch und Gärwirkung besteht kein direktes Verhältnis. Eine gärende Hefe, die durch große Einsaat am Wachstum verhindert ist, verhält sich ebenso wie eine aus minimaler Einsaat herangewachsene.

Bei Vergärung reiner Zuckerlösungen und großer Aussaat erfolgt Stickstoffaustritt erst nach der Zeit der Hefeerschöpfung. Der Stickstoffgehalt einer Hefe hängt nicht vom Stickstoffgehalt ihrer Trockensubstanz ab, sondern ist nach Pringsheim von dem Prozentgehalt an Trockensubstanz oder Zellwasser abhängig. Die Hefe ist imstande, ihre Energie lediglich aus dem Zerfall der Kohlenstoffquelle zu schöpfen, sie vermag aber auch Energie aus der Spaltung der Stickstoffquelle zu gewinnen, wenn diese nämlich in höher molekularer Form als im Ammonium-Ion z. B. als Aminosäure geboten wird.

Von Interesse für die Frage des Wachstums von Hefen in mineralischen Nährlösungen ist ferner Lindets Arbeit: „Le déchet de la fermentation alcoolique“ (27). Nach Lindet ist die Proteinsynthese offenbar aus Ammoniak oder Amidstickstoff in Gegenwart von Zucker allein sehr schwierig. Sind jedoch außer den Mineralsalzen und Ammoniumsulfat bis zu 2 % Kohlenstoffverbindungen wie Gummi-arabikum, Tannin, Roggengummi, Huminsubstanzen oder die Farbstoffe des gebrannten Zuckers vorhanden, so tritt schnelle Gärung, hohe Hefeausbeute (bis auf das Dreifache) ein und der nicht der Alkoholgärung anheimfallende Zucker ist dreimal geringer. Unter diesen Umständen ist die Hefezelle imstande, sich ihre Zellulose, ihr Glykogen leichter zu verschaffen, und verfügt über mehr Kraft, Ammoniakstickstoff in Protein umzuwandeln. Die Ergebnisse sind nach Angabe des Verfassers die gleichen wie in Hefenwasser, Pepton, Malzkeimabkochung, Bierwürze oder Traubenmost, auch ist die Hefenernte etwa dieselbe wie in vorgenannten Lösungen und auch der Ausfall des anderweitig verbrauchten Zuckers nicht viel schwächer.

Nach den Versuchen des Verfassers betrug die Hefenernte pro 100 ccm mineralischer Nährlösung mit Saccharose als Kohlenstoffquelle 0,8 g. Wurden der gleichen Lösung leicht assimilierbare Kohlenstoffverbindungen zugesetzt, so erhöhte sich die Hefenernte bei Zusatz von:

arabischem Gummi . . .	auf	3,3 g
Roggengummi	„	2,4 „
Tannin	„	2,1 „
Torfhumus	„	2,5 „
gebranntem Rohrzucker .	„	2,2 „
gebrannter Handelsglukose	„	2,1 „

Die Ernten sind berechnet auf 100 g verschwundene Glukose.

Als Gesamtergebnis zeigt sich, daß Rohrzucker ein schlechter Nährstoff für Hefe ist, und daß sich in seiner Gegenwart Ammoniak-

stickstoff nur mühsam in Proteine umwandelt. Dies ändert sich, wie Lindet festgestellt haben will, wenn man dem Zucker leicht assimilierbare Kohlenstoffverbindungen zusetzt. Der Aufbau der Proteine erfolgt dann nach seiner Ansicht fast ebenso schnell und leicht wie in Gegenwart organischer Stickstoffsubstanzen.

Experimenteller Teil

In nachfolgenden Ausführungen habe ich mir die Aufgabe gestellt, an der Erweiterung der Kenntnis der Lebenstätigkeit der Hefen und verwandter Organismen bei schwächster Aussaat in mineralischen Nährlösungen zu arbeiten.

1. Kapitel.

Hefevermehrung und Gärung in mineralischen Nährlösungen mit Zucker als einziger Kohlenstoffquelle

Die meinen Versuchen zugrunde liegende Hefe ist Saccharomyces vini Oppenheimer Kreuz Nr. 2 der Sammlung des hiesigen Institutes. Es ist dieselbe Hefe, die auch Pringsheim zu seinen Versuchen verwendete. Ein Teil der nachfolgenden Versuche bezweckte die Nachprüfung der Pringsheimschen Resultate, mit denen ich meine Ergebnisse in Übereinstimmung bringen konnte, obwohl ich auf einem anderen Wege zum Ziele gelangte. Diese Arbeiten erschienen mir wertvoll, um Vergleichswerte für meine späteren unter gleichen Bedingungen angestellten Versuche zu gewinnen.

Als Nährsubstrat verwendete ich die Laurentsche Lösung mit 5 % Zucker (als einziger Kohlenstoffquelle), die im Liter enthielt:

0,75 g K_2HPO_4
5,00 g $(NH_4)_2SO_4$
0,10 g $MgSO_4$

Die Aussaatmengen der Hefen betrugen 5, 50, 500, 1000, 2500 und 5000 Zellen auf je 10 ccm Nährlösung. Die Zählungen erfolgten mittels der Zeißschen Hefezählkammer. Die Richtigkeit der Aussaatmengen wurde kontrolliert durch Aussaaten auf Gelatineplatten mit organischem

Nährsubstrat (Bierwürze), somit gleichzeitig Prüfung auf Entwicklungsfähigkeit des verwendeten Hefematerials als auch auf die Richtigkeit der Aussaatmengen. Sämtliche Versuche wurden doppelt im Reagenzröhrchen durchgeführt. Durch Mikroskopieren ganz geringer Quantitäten (je einer Platinöse) wurde der Tag der Sprossung und durch tägliche Beobachtung bei Wahrnehmung des Aufsteigens von Kohlensäurebläschen der Tag des Eintritts der sichtbaren Gärung notiert. Nach 40tägiger Versuchsdauer im Brutzimmer bei 25—28° C wurden die Versuche abgeschlossen und durch Zählen mittels der Zeißschen Hefenzählkammer die Anzahl der im Kubikzentimeter enthaltenen Hefenzellen ermittelt. Tabelle 1 gibt eine Übersicht über die angestellten Versuche.

Tabelle 1

Vermehrung und Gärung von Weinhefe in mineralischer 5prozentiger Zuckerlösung enthaltend im Liter: 0,75 g K_2HPO_4, 5,00 g $(NH_4)_2SO_4$ und 0,10 g $MgSO_4$

Hefe-Aussaat auf 10 ccm Nährlösung Zellen	Eintritt der Sprossung nach Tagen	Eintritt der sichtbaren Gärung nach Tagen	Ergebnis der Hefezählung (nach 40 Tagen) Millionen Zellen
5	—	—	—
50	3	10	21
500	2	7	22
1000	2	6	23
2500	2	6	25
5000	2	6	30

Eine Aussaat von 5 Zellen in mineralische Nährlösung zeigte keine Vermehrung, in Übereinstimmung mit Pringsheim. Bei 50 Zellen Aussaat war am 3. Tage Sprossung und am 10. Tage sichtbare Gärung eingetreten. Bei 500 Zellen Aussaat erfolgte die Sprossung einen Tag früher und Eintritt der sichtbaren Gärung schon nach sieben Tagen. Werden 1000, 2500 und 5000 Zellen zur Aussaat gebracht, so tritt eine wesentliche Steigerung der Intensität der Sprossung und früherer Eintritt der sichtbaren Gärung nicht mehr ein. Dieses Ergebnis deckt sich, was Entwicklung bei den verschiedenen Aussaaten anbetrifft, mit den Kossowiczschen Versuchen.

Hinzu tritt noch die von mir zahlenmäßig ermittelte Vermehrung bei den verschiedenen Aussaatmengen. Mit steigender Aussaat wächst auch das Endergebnis und zwar

bei	50	Zellen	Aussaat	21	Mill.	Zellen im	Kubikzentimeter
„	500	„	„	22	„	„ „	„
„	1000	„	„	23	„	„ „	„
„	2500	„	„	25	„	„ „	„
„	5000	„	„	30	„	„ „	„

Je mehr Zellen ausgesät werden, um so größer ist die Menge der organischen Stickstoffverbindungen, die der Nährlösung aus abgestorbenen Hefezellen zugeführt wird. Ich gehe dabei von folgendem Grundgedanken aus: In der für Hefevermehrung so ungünstigen mineralischen Nährlösung sterben zunächst die am wenigsten widerstandsfähigen Hefen ab. Die kräftigeren Zellen überleben sie und sind nun imstande, vermittels der aus den Zelleibern ausgetretenen organischen Stickstoffverbindungen sich zu vermehren und die anorganischen Stickstoffverbindungen anzugreifen. Es ist also die vermehrte Zuführung von organischen Stickstoffverbindungen, welche die steigende Hefenernte zur Folge hat. Ich will nicht unerwähnt lassen, daß im hiesigen Institut bei gleicher Hefe in organischer Lösung, Most oder Bierwürze, gezogen 80—100 Millionen Zellen im Kubikzentimeter gezählt werden, was nur auf den Einfluß der organischen Stickstoffsubstanzen zurückzuführen ist.

Nun vermag ich aber die von mir beobachteten Tatsachen, daß sichtbare Gärung in allen Fällen auftrat, wo Vermehrung stattfand, nicht mit der Kossowiczschen Behauptung in Übereinstimmung zu bringen, nach welcher bei Aussaat von nur einigen Hundert Hefenzellen wohl Vermehrung, aber keine sichtbare Gärung eintritt.

Es ließe sich da leicht einwenden, daß durch die von mir gewählte Arbeitsweise in Reagenzröhrchen (die ich vorziehe, weil sie eine schärfere Beobachtung als in größeren und breiteren Gefäßen ermöglicht) durch mehr Wandung ein mechanischer Reiz ausgeübt wird, der von Einfluß auf die Gärung sein dürfte. Ich führe es auf die kleinen Unebenheiten der Reagenzgläser zurück, die eine Ausscheidung der Kohlensäure erleichtern.

Ich sah mich daher veranlaßt, drei größere Versuche mit je 200 ccm Nährlösung in Gärflaschen anzusetzen, die ich wie folgt impfte:

	Ausgesäte Hefezellen	
	auf 10 ccm	auf 200 ccm
Nr. 1	500	10 000
„ 2	5 000	100 000
„ 3	50 000	1 000 000

Die Nährlösung enthielt im Liter:

50 g Zucker
0,75 g K_2HPO_4
5,00 g $(NH_4)_2SO_4$
0,10 g $MgSO_4$

Die Gärflaschen standen 53 Tage bei Zimmertemperatur. Das Brutzimmer konnte infolge des durch die Kriegslage eingetretenen Kohlenmangels nicht mehr geheizt werden. Täglich wurden die Gärflaschen mit Ausnahme der Sonntage gewogen und die Gewichtsabnahmen notiert wie aus Tabelle 2 ersichtlich. Sichtbare Kohlensäureentwicklung trat bei Nr. 1 am 12., bei Nr. 2 am 10. und bei Nr. 3 am 8. Tage ein. Bei allen drei Versuchen stellt sich heraus, daß der Beginn der sichtbaren Kohlensäureausscheidung bei 0,6 g CO_2 aus 200 ccm einsetzt. Es ist anzunehmen, daß sich bis zu dieser Grenze die Kohlensäure in der Flüssigkeit löst. Die Angärung der drei Versuche ist verschieden, und zwar setzt die Gärung um so schneller ein, je größer die Hefeaussaat ist. Jedoch ist das Gärungstempo der drei Versuche unter sich gleich.

Am 53. Tage wurden die Versuche abgeschlossen. Ich stellte bei allen drei Versuchen einen gleichen Gewichtsverlust von 4,8 g fest, d. i. auf 100 ccm Nährlösung, die 5 g Zucker enthielt . . . . 2,4 %
den Alkoholgehalt ermittelte ich bei allen drei Versuchen durch
Destillation mit . . . . 2,6 %
5,0 %

Die Hefenernte filtrierte ich auf gewogenen Filterchen ab und ermittelte nach erfolgter fünfstündiger Trocknung im Trockenschrank bei 105° C die Hefenernte-Trockensubstanz

mit 0,1029 g bei Nr. 1,
„ 0,1058 g „ Nr. 2,
„ 0,1109 g „ Nr. 3.

Die Steigerung der Hefenernte ist nur eine ganz geringe. Das Endresultat kann somit bei allen drei Versuchen als gleich bezeichnet werden. Aber auch in dieser Versuchsreihe tritt erneut der Widerspruch zu der Kossowiczschen Ansicht zutage. Mag sein, daß infolge ungünstig gewählter Gefäße dem Verfasser die bei schwächerer Aussaat (50 Zellen auf 10 ccm) auch naturgemäß schwächere Gärung unsichtbar blieb. Es kann ferner sein, daß es an der Eigenart der zu seinen Versuchen verwendeten Hefenrasse liegt, die bei mittlerer Aussaat so langsam vergärt, daß die aufsteigenden CO_2-Bläschen zu klein sind, um mit dem Auge

Tabelle 2.

3 Gärversuche: Weinhefe in verschiedener Aussaat in mineralischer Nährlösung enthaltend 50 g Zucker, 0,75 g K_2HPO_4, 5,00 g $(NH_4)_2SO_4$ und 0,1 g $MgSO_4$ im Liter. 200 ccm Versuchsflüssigkeit — CO_2 Verlust in g —

Anzahl der Tage	Zahl der ausgesäten Hefezellen pro 10 ccm			Anzahl der Tage	Zahl der ausgesäten Hefezellen pro 10 ccm		
	Nr. 1 5000	Nr. 2 50 000	Nr. 3 500 000		Nr. 1 5000	Nr. 2 50 000	Nr. 3 500 000
1	—	—	—	28	—	—	—
2	—	—	—	29	2,8	2,9	2,9
3	—	—	—	30	2,9	3,0	3,0
4	—	—	0,1	31	3,0	3,0	3,1
5	—	—	0,2	32	3,0	3,1	3,2
6	—	0,1	0,3	33	3,1	3,1	3,2
7	—	—	—	34	3,1	3,2	3,3
8	—	0,3	0,6[1])	35	—	—	—
9	—	0,4	0,7	36	3,3	3,4	3,4
10	0,1	0,5[1])	0,8	37	3,4	3,6	3,5
11	0,3	0,6	0,9	38	3,6	3,8	3,7
12	0,6[1])	0,7	1,0	39	3,8	4,0	3,9
13	0,7	0,8	1,1	40	4,0	4,1	4,1
14	—	—	—	41	4,1	4,2	4,2
15	0,9	1,0	1,2	42	—	—	—
16	1,2	1,2	1,4	43	4,2	4,3	4,3
17	1,5	1,4	1,6	44	4,3	4,4	4,4
18	1,7	1,7	1,8	45	4,3	4,4	4,4
19	1,9	1,9	2,0	46	4,4	4,5	4,6
20	2,2	2,1	2,2	47	4,6	4,7	4,7
21	—	—	—	48	4,7	4,7	4,7
22	2,4	2,5	2,6	49	—	—	—
23	2,6	2,6	2,7	50	4,7	4,7	4,8
24	2,7	2,7	2,7	51	4,8	4,8	4,8
25	2,7	2,7	2,7	52	4,8	4,8	4,8
26	2,8	2,7	2,8	53	4,8	4,8	4,8
27	2,8	2,8	2,9				

wahrgenommen zu werden, und erst erkennbar werden, wenn durch größere Aussaat auch die Vergärung stärker einsetzt.

Wie ich indessen durch meine Versuche bewies, verträgt diese Ansicht eine Verallgemeinerung nicht.

Hiermit schließe ich diese Versuche ab und fasse zusammen:

[1]) Eintritt der sichtbaren Kohlensäureentwicklung.

Bei Aussaat einzelner Hefezellen in mineralische Nährlösungen mit Zucker als Kohlenstoffquelle tritt eine Vermehrung nicht ein.

Bei Aussaat von 50 Zellen und mehr in 10 ccm mineralischer Nährlösungen erfolgt Vermehrung. Die Vermehrung erfolgt auf Kosten der abgestorbenen Zellen. Die aus den toten Zellen austretenden organischen Stickstoffverbindungen verhelfen den überlebenden Zellen zum Wachstum und zur Vermehrung.

Je mehr Zellen ausgesät werden, um so intensiver setzt Vermehrung und Gärung ein.

In allen Fällen, in welchen Vermehrung eintrat, beobachtete ich sichtbare Gärung.

2. Kapitel

Hefevermehrung und Gärung in derselben mineralischen Nährlösung

a) Mit Zusätzen von organischen stickstofffreien Substanzen

Im Anschluß an die Lindetschen Arbeiten (27), nach welchen bei Zusatz von leicht assimilierbaren Kohlenstoffverbindungen den Hefen die Verarbeitung mineralischer Stickstoffverbindungen erleichtert wird und die Vermehrung wie in organischen Nährlösungen vor sich geht, entschloß ich mich, festzustellen, ob diese Zusätze auch bei den Hefen in schwächster Aussaat die Vermehrung ermöglichen. Aus der von Lindet angeführten Versuchsreihe wählte ich zunächst gebrannten Zucker als leichtassimilierbare stickstofffreie Kohlenstoffverbindung. Ich verwendete dazu Rohrzucker, bei welchem ich mich durch eine Kjeldahlbestimmung davon überzeugt hatte, daß derselbe stickstofffrei war. Denselben brannte ich in einer Porzellanschale bis zur dunkelbraunen Färbung über einer Bunsenflamme und löste ihn dann in Wasser auf. Als Nährlösung verwendete ich die gleiche wie in Kapitel 1 beschrieben. Um die günstigste Konzentration für den Zusatz festzustellen, versetzte ich die Nährlösungen mit entsprechenden Quanten gebrannten Zuckers, ausgehend von einer Normallösung, die ich mir zu diesem Zwecke herstellte, um folgende Konzentrationen zu erhalten:

1.	0,1 %	gebrannter	Zucker
2.	0,05 %	"	"
3.	0,005 %	"	"
4.	0,0005 %	"	"
5.	0,00005 %	"	"
6.	0,00001 %	"	"

Als Versuchsgefäße kamen 100 ccm-Erlenmeyerkölbchen zur Verwendung, welche mit je 20 ccm Nährflüssigkeit beschickt wurden. Für jede der oben angeführten Versuchsreihen wurden fünf Kölbchen angesetzt, die mit je einer Zelle pro Kubikzentimeter Flüssigkeit geimpft wurden (d. s. 20 Zellen). Nach dem Impfen wurden die Kölbchen gut umgeschüttelt, um eine Trennung der eingesäten Hefenzellen anzustreben. Die Durchführung war nach dem Prinzip der Hansenschen fraktionierten Kultur gedacht, um aus den event. gewachsenen auf dem Boden sichtbaren Hefenflecken die Zahl der entwicklungsfähigen Zellen bestimmen zu können. Die Kölbchen wurden im Brutzimmer bei 25—28° C 30 Tage aufgestellt und von 10 zu 10 Tagen kontrolliert. In keinem Falle war Wachstum eingetreten mit Ausnahme von zwei Kölbchen, die durch einen Schimmelpilz infiziert waren. Ich komme jedoch auf diesen Fall noch später zu sprechen. Ein nachträglich angestellter Kontrollversuch ergab dasselbe negative Resultat. Ich stellte fest: Der Zusatz von gebranntem Zucker, einer nach Lindet leicht assimilierbaren Kohlenstoffverbindung, ist in keiner Konzentration imstande, meiner Versuchshefe bei schwächster Aussaat das Wachstum in mineralischer Nährlösung zu ermöglichen.

Um aber festzustellen, ob der gebrannte Zucker überhaupt einen günstigen Einfluß auf die Vermehrung auszuüben vermag, verwendete ich die fünf Erlenmeyerkölbchen aus obiger Versuchsreihe, welche 0,1% gebrannten Zucker enthielten und steril geblieben waren, zu folgendem Versuch. Ich impfte sie wie folgt:

Nr.	1	mit	50	Zellen
„	2	„	500	„
„	3	„	1000	„
„	4	„	2500	„
„	5	„	5000	„

Sie wurden ebenfalls im Brutzimmer bei 25—28° C aufgestellt. Schon bei der ersten Kontrolle nach 10 Tagen war in allen Kölbchen Entwicklung und sichtbare Gärung eingetreten. Nach Verlauf von 40 Tagen ergab die Zählung:

Nr.	Hefeaussaat Zellen	Hefeernte Millionen Zellen im ccm
1	50	26
2	500	28
3	1000	30
4	2500	35
5	5000	36

Vergleichen wir nun diese Zahlen mit dem Ergebnis der Tabelle 1, aus welcher ich nachfolgenden Auszug wiedergebe.

Nr.	Hefeaussaat Zellen	Hefeernte Millionen Zellen im ccm
1	50	21
2	500	22
3	1000	23
4	2500	25
5	5000	30

Beim Vergleich mit dieser Versuchsreihe, in welcher die gleichen Hefemengen in mineralische Nährlösung ohne jeglichen Zusatz ausgesät wurden, kommt man zu dem Ergebnis: Gebrannter Zucker, eine stickstofffreie Kohlenstoffverbindung steigert die Hefeernte nur bei reichlicher Hefeaussaat (d. h. über 50 Zellen pro ccm) und zwar steigt mit der Aussaatmenge die Hefeernte.

b) Mit Zusätzen von organischen stickstoffhaltigen Substanzen

Nunmehr erweiterte ich meine Versuche auf die folgenden Zusätze, von denen Lindet behauptet, es seien die Entwicklung fördernde leicht assimilierbare Kohlenstoffverbindungen und zwar in folgenden Dosierungen:

Torfhumussaures Ammonium . . .	0,1 % u. 0,01 %
Torfhumussaures Kalium	0,1 % u. 0,01 %
Erdhumussaures Ammonium . . .	0,1 % u. 0,01 %
Erdhumussaures Kalium	0,1 % u. 0,01 %
Tannin	1,0 % : 0,5 % u. 0,1 %

Die Huminsubstanzen wurden nach dem im hiesigen Institut gebräuchlichen Verfahren gewonnen. Zur Darstellung von Erdhumus wurde Komposterde und für den Torfhumus schwarzer Brenntorf verwendet. 2—3 kg Ackererde, bezw. zerkleinerter Torf wurden mit sehr verdünnter Salzsäure übergossen. Die Flüssigkeit muß gerade noch sauer sein. Nach fünftägiger Einwirkung wird abgegossen und mit stark verdünnter Natronlauge übergossen. Die Humussäuren lösen sich nun langsam auf. Nach acht Tagen wird abgehebert, mit Salzsäure schwach angesäuert, die dunkelbraunen ausfallenden Flocken werden abfiltriert, mit kaltem Wasser gewaschen und über Schwefelsäure im Exsikkator getrocknet. Zwecks Herstellung von torfhumussaurem, bezw. erdhumussaurem Kali wurde die Torfhumussubstanz in $^1/_{10}$-prozentiger Kalilauge gelöst. Torfhumussaures bezw. erdhumussaures Ammonium wurden durch Auflösen in $^1/_{10}$-prozentiger Ammoniaklösung dargestellt.

Außer dieser Versuchsreihe setzte ich noch Parallelversuche an mit abgebauten Eiweißsubstanzen, wie Pepton und Harnstoff, um ihren Einfluß auf die Vermehrung obigen Stoffen gegenüberzustellen.

Tabelle 3.
Vermehrung und Gärung von Weinhefe in mineralischer 5prozentiger Zuckerlösung enthaltend im Liter: 0,75 g K_2HPO_4, 5,00 g $(NH_4)_2SO_4$ und 0,10 g $MgSO_4$.

Zusatz	Hefe-Aussaat auf 10 ccm Nährlösung Zellen	Eintritt der Sprossung nach Tagen	Eintritt der sichtbaren Gärung nach Tagen	Ergebnis der Hefezählung (nach 40 Tagen) Mill. Zellen
0,1 % Tannin . . .	5	—	—	—
Desgl.	50	2	5	26
Desgl.	500	2	4	31
Desgl.	1000	2	4	40
Desgl.	2500	2	4	40
0,5 % Tannin . . .	5	—	—	—
Desgl.	50	—	—	—
Desgl.	500	—	—	—
Desgl.	1000	—	—	—
1,0 % Tannin . . .	500	—	—	—
Desgl.	5000	—	—	—
0,01 % torfhumussaur. Ammonium . . .	5	2	5	15
Desgl.	50	2	4	20
Desgl.	500	2	4	21
Desgl.	1000	2	4	25
Desgl.	2500	2	4	23
0,1 % torfhumussaur. Ammonium . . .	5	2	5	26
Desgl.	50	2	4	26
Desgl.	500	2	4	26
Desgl.	1000	2	4	28
Desgl.	2500	2	4	34
0,01 % torfhumussaur. Kalium	5	2	5	12
Desgl.	50	2	4	17
Desgl.	500	2	4	16
Desgl.	1000	2	4	18
Desgl.	2500	2	4	22
0,1 % torfhumussaur. Kalium	5	2	5	19
Desgl.	50	2	4	21
Desgl.	500	2	4	19
Desgl.	1000	2	4	21
Desgl.	5000	2	4	28
0,01 % erdhumussaur. Ammonium . . .	5	2	5	17

— bedeutet: keine Entwicklung.

Fortsetzung von Tabelle 3

Zusatz	Hefe-Aussaat auf 10 ccm Nährlösung Zellen	Eintritt der Sprossung nach Tagen	Eintritt der sichtbaren Gärung nach Tagen	Ergebnis der Hefezählung (nach 40 Tagen) Mill. Zellen
0,01 % erdhumussaur. Ammonium . . .	50	2	4	24
Desgl.	500	2	4	20
Desgl.	1000	2	4	31
Desgl.	5000	2	4	30
0,1 % erdhumussaur. Ammonium . . .	5	3	5	16
Desgl.	50	3	4	19
Desgl.	500	2	4	26
Desgl.	1000	2	4	30
Desgl.	5000	2	4	32
0,01 % erdhumussaur. Kalium	5	2	5	18
Desgl.	50	2	4	25
Desgl.	500	2	4	21
Desgl.	1000	2	4	34
0,1 % erdhumussaur. Kalium	5	2	4	22
Desgl.	50	2	5	25
Desgl.	500	2	4	26
Desgl.	1000	2	4	30
Desgl.	5000	2	4	38
0,0005 % Pepton . .	5	2	5	27
Desgl.	50	2	4	28
Desgl.	500	2	3	32
0,001 % Pepton . . .	500	2	3	34
0,0015 % Pepton . .	500	2	3	32
0,002 % Pepton . .	500	2	3	44
0,0025 % Pepton . .	500	2	3	40
0,0005 % Harnstoff .	5	2	5	22
Desgl.	50	2	4	30
Desgl.	500	2	3	37
0,001 % Harnstoff . .	500	2	3	37
0,0015 % Harnstoff .	500	2	3	41
0,0020 % Harnstoff .	500	2	3	51
0,0025 % Harnstoff .	500	2	3	44

Ich führte alle Versuche doppelt und zwar in Reagenzgläsern durch, wie bereits in Kapitel 1 beschrieben unter Verwendung der gleichen mineralischen Nährlösung. Die Zählung erfolgte wiederum nach 40

Tagen. Die Ergebnisse stelle ich in Tabelle 3 und Tabelle 4 zusammen. Tabelle 3 gibt eine Übersicht über die angestellten Versuche und ermöglicht einen Vergleich mit den in Kapitel 1 (Tabelle 1 unter gleichen Bedingungen durchgeführten Arbeiten. Wie dort ist Tag der Sprossung, Eintritt der sichtbaren Gärung und Ergebnis der Hefenzählung nach 40 Tagen eingetragen. Die fördernde Wirkung der Zusätze zeigt die wesentlich früher einsetzende Sprossung und sichtbare Gärung bei gleichen Hefeaussaatmengen und in der letzten Spalte die gesteigerten Hefeernten.

Zwecks Vergleich der in gleicher Nährlösung jedoch ohne Zusätze ausgeführten Versuche mit gleichen Aussaatmengen siehe Tabelle 1.

In Tabelle 4 habe ich zwecks besserer Übersicht der Endergebnisse die Aussaatmengen, Zusätze und Hefeernten zusammengestellt. Bei 1,0 und 0,5 % Tannin trat infolge Giftwirkung überhaupt keine Entwicklung ein, 0,1 % Tannin verbessert namentlich bei stärkerer Aussaat. Torfhumussaures Ammonium verbessert die Hefeernte etwas mehr als torfhumussaures Kali. Erdhumussaures Ammonium wirkt wie erdhumussaures Kali und letzteres wieder besser als torfhumussaures Kali.

Pepton und Harnstoff beeinflussen die Hefenernte in auffallend günstiger Weise, wie dies in keinem andern Versuch der Fall ist. Die Ernte steigt langsam mit der Gabe an Pepton und Harnstoff. Die günstige Wirkung prägte sich aber auch aus in der kräftigeren Sprossung und dem schnellen Eintritt der sichtbaren Gärung.

Im Anschluß an diese Versuchsreihe leitete ich eine neue ein und zwar mit den gleichen Zusätzen, aber in anderer Dosierung wie oben, in der gleichen mineralischen Nährlösung, um festzustellen, bei welchen Verdünnungen dieser Zusätze die Wirkung derselben aufhört. Es wurde gewählt Tannin 0,005, 0,001, 0,0001 und 0,00001 %. Als Vertreter der Huminsubstanzen erdhumussaures Kali, welches die besten Resultate ergab. Dieses wurde wie folgt gegeben: 0,05, 0,001, 0,0005, 0,00005 %. Um die Grenze der günstigen Einwirkung organischer Stickstoffverbindungen wie Pepton und Harnstoff auf die Vermehrung der Hefe bei schwächster Aussaat in mineralischer Nährlösung zu ermitteln, wurden Pepton und Harnstoff in zwei weiteren Verdünnungen gegeben und zwar 0,00005 und 0,000001 prozentig.

Zur Aussaat gelangt bei dieser Versuchsreihe pro ccm Flüssigkeit eine Zelle. Verwendet wurden Erlenmeyerkölbchen mit flachem Boden (Durchmesser 5 cm), welche mit 20 ccm Nährlösung beschickt wurden.

Tabelle

Vermehrung von Weinhefe (Millionen im ccm) in 5 % mineralischer Zucker-

Aussaat Zellen	0,5 u. 1,0 % Tannin	0,1 % Tannin	0,01 % torfh. Ammon.	0,1 % torfh. Ammon.	0,01 % torfh. Kali	0,1 % torfh. Kali	0,01 % erdh. Ammon.	0,1 % erdh. Ammon.
5	—	—	15	26	12	19	17	16
50	—	26	20	26	17	21	24	19
500	—	31	21	26	16	19	20	26
1000	—	40	25	28	18	21	31	30
2500	—	40	23	34	22	28		
5000	—						30	32

Das Zählen der Hefezellen erfolgte wie bisher mit der Zeißschen Hefezählkammer und zur Kontrolle wurden Würze-Gelatine-Platten gleichzeitig geimpft. Nach dem Impfen wurde die Flüssigkeit gut umgeschüttelt, damit die ausgesäten Zellen getrennt auf dem flachen Boden des Erlenmeyerkölbchens verteilt werden, wie dies die Hansensche Methode vorsieht. Als Zweck verfolgte ich bei dieser Durchführung, daß bei den wenigen Zellen, die so verstreut lagen, ihre Entwicklung nicht durch die organischen Stickstoffverbindungen etwaiger absterbender Zellen unterstützt werde, sondern daß die Vermehrung lediglich auf Grund der zu der mineralischen 5 % Zuckerlösung erfolgten Zusätze zurückzuführen sei. Die entwicklungsfähigen Zellen hatten dann auch in der Tat nach Verlauf von zehn Tagen getrennt liegende Hefenflecke gebildet, welche mühelos gezählt werden konnten. Es dürfte ohne weiteres einleuchtend sein, daß unter den für die Entwicklung der Hefezellen so ungünstigen Verhältnissen in mineralischer Nährlösung nur den stärksten und kräftigsten Zellen Wachstum und Vermehrung möglich ist, um so mehr, als zu berücksichtigen ist, daß die Gaben der die Vermehrung ermöglichenden Zusätze von minimalster Dosierung sind. Hieraus erklärt sich auch, daß von den je für ein Erlenmeyerkölbchen zur Aussaat gebrachten 20 Zellen sich nur ein Teil entwickeln konnte, während bei den Kontrollversuchen auf Gelatineplatten, einem Nährsubstrat, in welchem die Zellen reichlich Stickstoff in organischer Form fanden, alle zur Entwicklung kamen. Für jeden Versuch wurden 5 Erlenmeyerkölbchen mit je 20 ccm Nährlösung angesetzt.

In Tabelle 5 habe ich die Ergebnisse zusammengestellt.

Die Minimalgaben der Zusätze, bei welchen noch eine Entwicklung möglich ist, liegen für

4.
lösung enthaltend im Liter: 0,75 g K_2HPO_4, 5,00 g $(NH_4)_2SO_4$ u. 0,10 g $MgSO_4$

0,01 % erdh. Kali	0,1 % erdh. Kali	0,0005 % Pepton	0,0005 % Harnstoff	Aussaat 500 Zellen	0,001 %	0,0015 %	0,002 %	0,0025 %	0,0005 %
18	22	27	22	Pepton . .	34	32	44	40	32
25	25	28	30	Harnstoff .	37	41	51	44	37
21	26								
34	30								
	38								

Tannin . . . . . bei 0,0001 %
Huminsubstanzen . „ 0,0001 „
Pepton . . . . . „ 0,00005 „
Harnstoff . . . . „ 0,00005 „

Es waren bei obiger Dosierung in jeder Versuchsreihe (5 Erlenmeyerkölbchen mit je 20 Zellen) von 100 Zellen noch gewachsen

bei Tannin 16
„ Huminsubstanzen . . . 18
„ Pepton 16
„ Harnstoff 14

Die Hefenernte betrug bei diesen äußersten Gaben

von Tannin . . . . 15 Mill. im ccm
„ Huminsubstanzen . . . 18 „ „ „
„ Pepton . . . . 29 „ „ „
„ Harnstoff . . . . . . 28 „ „ „

Dazu bemerke ich, daß dieses Ergebnis nicht mit den voraufgehenden, unter anderen Umständen erzielten Hefeernten zu vergleichen ist. Der relative Vergleich ist wertvoll, der absolute zweckwidrig.

Aus den Werten von Tabelle 4 und 5 lassen sich die Optimalgaben, bei denen bestes Wachstum erfolgt, festsetzen: für Tannin 0,001 %, darüber und darunter schlechtere Entwicklung, für Huminsubstanzen 0,05 %, darüber und darunter geringere Hefeernten, für abgebaute organische Stickstoffsubstanzen gilt, daß mit steigender Gabe auch das Endergebnis wächst. So erzielte ich bei einem besonders angesetzten Versuch mit hoher Gabe an organischer Stickstoffverbindung, um die Richtigkeit obigen Satzes zu beweisen, eine Entwicklung sämtlicher ausgesäter Zellen, und eine besonders hohe Hefenernte. Die Zusammensetzung der Nährlösung war wie bei den vorhergehenden Versuchen. Die Peptongabe betrug 0,01 %. Angesetzt wurden 5 Erlenmeyerkölbchen

Tabelle 5

Vermehrung von Weinhefe in mineralischer 5 proz. Zuckerlösung mit Zusätzen.
Hefeaussaat pro ccm 1 Zelle.

Zusatz	Nr. der Erlenmeyer mit je 20 ccm Nährlösg.	Anzahl der Hefekolonien	Ergebnis der Hefezählung nach 40 Tagen (Mill. i. ccm)
Ohne Zusatz	1—5	Es erfolgte bei keinem der fünf geimpften Erlenmeyerkölbchen eine Vermehrung	
Tannin 0,005 %	1	7	
Desgl.	2	13	
Desgl.	3	5	25
Desgl.	4	12	
Desgl.	5	6 i. Sa. 43	
Tannin 0,001 %	1	10	
Desgl.	2	12	
Desgl.	3	10	28
Desgl.	4	16	
Desgl.	5	14 i. Sa. 62	
Tannin 0,0001 %	1	—	
Desgl.	2	2	
Desgl.	3	6	15
Desgl.	4	8	
Desgl.	5	— i. Sa. 16	
Tannin 0,00001 %	1	—	
Desgl.	2	—	
Desgl.	3	—	—
Desgl.	4	—	
Desgl.	5	—	
Erdhumuss. Kali 0,05 %	1	10	
Desgl.	2	6	
Desgl.	3	12	26
Desgl.	4	12	
Desgl.	5	2 i. Sa. 42	
Erdhumuss. Kali 0,001 %	1	8	
Desgl.	2	6	
Desgl.	3	5	22
Desgl.	4	7	
Desgl.	5	4 i. Sa. 30	
Erdhumuss. Kali 0,0001 %	1	6	
Desgl.	2	—	
Desgl.	3	6	18
Desgl.	4	6	
Desgl.	5	— i. Sa. 18	
Erdhumuss. Kali 0,00005 %	1	—	

Fortsetzung von Tabelle 5

Zusatz	Nr. der Erlenmeyer mit je 20 ccm Nährlösg.	Anzahl der Hefekolonien	Ergebnis der Hefezählung nach 40 Tagen (Mill. i. ccm)
Erdhumuss. Kali 0,00005 %	2	—	—
Desgl.	3	—	
Desgl.	4	—	
Desgl.	5	—	
Pepton 0,00005 % . . .	1	5	
Desgl.	2	3	29
Desgl.	3	4	
Desgl.	4	4	
Desgl.	5	— i. Sa. 16	
Pepton 0,000001 % . . .	1	—	
Desgl.	2	—	
Desgl.	3	—	
Desgl.	4	—	
Desgl.	5	—	
Harnstoff 0,00005 % . . .	1	4	
Desgl.	2	3	
Desgl.	3	4	28
Desgl.	4	3	
Desgl.	5	— i. Sa. 14	
Harnstoff 0,000001 % . .	1	—	
Desgl.	2	—	
Desgl.	3	—	
Desgl.	4	—	
Desgl.	5	—	

mit je 20 ccm Nährlösung, die je mit 20 Zellen geimpft wurden. Nach 10 Tagen wurden die Hefenflecken ermittelt wie folgt:

Nr. 1 . .	21
„ 2 . .	19
„ 3 . .	22
„ 4 . .	16
„ 4 . .	22
i. Sa.	100

Zählung der Hefeernte nach 40 Tagen ergab 51 Millionen im ccm.

Dieses Ergebnis ist ein erneuter Beweis für die günstige Wirkung von organischen Stickstoffsubstanzen auf die Entwicklung der Hefe.

Nach den Resultaten meiner bisherigen Versuche, bei welchen ich mich der von Lindet als leicht assimilierbar bezeichneten Kohlenstoffverbindungen bediente, trat mir die Frage entgegen, welche Eigen-

schaften des Tannins oder der Huminsubstanzen die günstige Einwirkung auf das Wachstum ausübten. Ich vermutete einen Gehalt an organischen Stickstoffsubstanzen. Ich untersuchte daher die Substanzen nach der Kjeldahl-Methode und ermittelte bei den Humussubstanzen 3,44% und bei Tannin 1,25% Stickstoff.

Nunmehr treten die Ergebnisse vorliegender Versuchsreihen in ein ganz anderes Licht, denn nicht die leicht assimilierbaren Kohlenstoffverbindungen waren es, welche der Hefe bei schwächster Aussaat die Entwicklung ermöglichten, sondern die organischen Stickstoffsubstanzen. Wie schwach die Dosen der abgebauten organischen Stickstoffsubstanzen zu sein brauchen, um der Hefe Wachstum zu ermöglichen, zeigen die voraufgegangenen Versuche.

Bei Harnstoff und Pepton waren nur 0,00005% erforderlich, um Hefenwachstum zu erzielen.

Entsprechend dem geringeren Gehalte an organischen N bei den Huminsubstanzen und bei Tannin lag die Grenze der Wirksamkeit bei beiden bei 0,0001%.

An dieser Stelle kann ich es mir nicht versagen, mit einigen Worten auf die Wildierssche Bios-Theorie einzugehen. Bei meinen Literaturstudien fand ich, daß Lindner (16) darauf hinwies, daß es sich bei den von Wildiers angeführten Substanzen u. a. Harnstoff und Pepsin-Pepton, die das Wachstum der Hefe nicht wie „Bios" zu fördern vermögen, um einen Irrtum handeln müsse. Dieser Einwand Lindners besteht zu Recht, wie ich auf Grund meiner voraufgegangenen Versuche nachgewiesen hatte. Die Wildierssche Annahme erfährt dadurch eine erneute Widerlegung.

Der fördernde Einfluß von Spuren organischen Stickstoffs, den ich im Vorstehenden zahlengemäß ermittelte, erklärt auch die Ergebnisse älterer Versuche. Henry (12) fand Wachstum, wenn er drei Tropfen Würze mit Rohrzuckerhefe oder Logos oder Burton oder Berliner Rasse 2 in 100 ccm mineralische Nährsalzlösung eintrug.

Hier zeigt sich wiederum, welch geringe Spuren von den in der Würze enthaltenen organischen Stickstoffsubstanzen genügten, um der Hefe sowohl Wachstum und Vermehrung in mineralischer Nährlösung als auch Assimilation anorganischer Stickstoffverbindungen zu ermöglichen.

Ich erwähnte weiter oben bei den Versuchen, welche gebrannten Zucker als Zusatz enthielten und bei denen bei schwächster Aussaat keine Hefenentwicklung eingetreten war, daß zwei Kölbchen von einem Schimmelpilz infiziert seien. Hier war auch Hefeentwicklung eingetreten.

Die von dem Schimmelpilz an die Lösung abgegebenen Stickstoffverbindungen hatte den Hefen die Vermehrung ermöglicht.

Anschließend führte ich folgenden Versuch durch, wie er bereits ähnlich von Kossowicz beschrieben war. 100 ccm der mineralischen Nährlösung, die meinen bisherigen Arbeiten zugrunde lag — ohne jeglichen Zusatz —, wurde geimpft mit 5 Zellen Kahm- und 5 Zellen Weinhefe. Der Versuch wurde in einer Gärflasche mit Watteverschluß durchgeführt. Die Kahmhefe entwickelte sich nach einigen Tagen sichtbar als Haut. Am 17. Tage trat sichtbare Gärung ein. Die Flasche wurde vom 1. Tage ab mit Ausnahme der Sonntage täglich gewogen. Der Gewichtsverlust wurde notiert und ist in Tabelle 6 niedergeschrieben. Nach 45 Tagen wurde der Versuch abgebrochen. Zu dieser Zeit war ein CO_2-Gewichtsverlust von 2,0 g eingetreten. Der Gewichtsverlust ist hier teilweise auf Wasserabgabe zurückzuführen, da kein Gärverschluß angewendet wurde. Durch Destillation ermittelte ich einen Alkoholgehalt von 2,2 g in 100 ccm. Die Restzuckerbestimmung nach Fehling ergab kein Vorhandensein von Zucker. Da die 100 ccm Nährlösung 5 g Zucker enthielten, so ist die Differenz zum Aufbau der Leibessubstanz neuer Hefezellen und als vom Kahm verarbeitet anzusehen.

Das Wesentliche ist indessen, daß es die vom Kahm ausgeschiedenen organischen Stickstoffsubstanzen waren, welche es der Hefe ermöglichten, sich zu vermehren.

Tabelle 6

Gärverlauf von 5 Zellen Weinhefe in 100 ccm mineralischer Nährlösung enthaltend im Liter 50 g Zucker, 0,75 g K_2HPO_4, 5,0 g $(NH_4)_2SO_4$, 0,1 g $MgSO_4$ bei gleichzeitiger Aussaat von 5 Zellen Kahmhefe

Anzahl der Tage	CO_2-Verlust	Anzahl der Tage	CO_2-Verlust	Anzahl der Tage	CO_2-Verlust
1—14	—	25	1,1	36	1,9
15	0,1	26	1,3	37	1,95
16	0,15	27	1,45	38	1,95
17	0,25	28	—	39	2,00
18	0,3	29	1,6	40	2,0
19	0,4	30	1,6	41	2,0
20	0,5	31	1,65	42	2,0
21	—	32	1,75	43	2,0
22	0,7	33	1,80	44	2,0
23	0,8	34	1,85	45	2,0
24	0,95	35	—		

Den Beweis, daß Kahm organische Stickstoffverbindungen an die Lösung abgibt, liefere ich im letzten Teil der vorliegenden Arbeit.

Anhänger der Bios-Theorie schreiben Schimmelpilzen und Kahmhefen die Fähigkeit zu, Bios bilden zu können, während es sich lediglich um ausgeschiedene organische Stickstoffsubstanzen handelt. Daß dabei nicht ein einheitlicher Stoff in Frage kommt, sondern eine Gruppe von komplizierten organischen Substanzen wie Nucleoprotein oder Nucleine, darauf weisen besonders Euler und Lindner (25) hin. Um so wunderlicher erscheint es uns, als Erklärung die unbewiesene Bios-Theorie anzunehmen.

In der Literatur wird des öfteren darauf hingewiesen (u. a. Nägeli u. Pringsheim), daß weinsaures Ammonium auf die Vermehrung der Hefen günstiger wirkt als Ammonium an anorganische Säuren gebunden. Hier handelt es sich um größere Hefenaussaaten. Um nun zu prüfen, ob das Ammonium-Ion in Verbindung mit organischer Säure (organisches Salz) einzelnen in gezuckerte mineralische Nährlösung ausgesäte Hefezellen zum Wachstum verhilft und sich somit anders verhält als das Ammonium-Ion in Verbindung mit einer anorganischen Säure (anorganisches Salz), wurden folgende Versuche angesetzt.

Die bisher verwendete Laurentsche gezuckerte mineralische Nährlösung wurde anstatt mit 5,00 g schwefelsaurem Ammoniak mit 5,00 g weinsaurem Ammoniak versetzt.

In die Lösung wurden nach der üblichen Zähl- und Verdünnungsmethode im sterilen Wasser Hefenzellen eingesät und davon Tröpfchenkulturen angefertigt, derart, daß eine Verteilung von je einer Zelle auf einen Tropfen angestrebt wurde. Diejenigen Tröpfchen, bei denen eine Zelle mikroskopisch nachgewiesen wurde, wurden durch einen Tintenpunkt markiert.

Die Präparate wurden täglich geprüft und da nach acht Tagen keine Entwicklung eingetreten war, so konnte ich, auch auf Grund der starken Lichtbrechung, annehmen, daß die Zellen abgestorben waren.

Es ergibt sich also daraus: Hefe einzeln ausgesät in mineralische Nährlösung ist zwecks Wachstum und Vermehrung darauf angewiesen, daß der Stickstoff in organischer Bindung zu ihrer Verfügung steht.

Ein Wachstum tritt nicht ein, gleichgültig, ob wir der Hefe das Ammonium-Ion an organische oder anorganische Säure gebunden bieten.

Nunmehr fasse ich die Ergebnisse dieses Kapitels zusammen: Gebrannter Zucker (eine stickstofffreie Kohlenstoffverbindung) vermag einzeln ausgesäten Hefezellen in mineralischer Nährlösung nicht zur

Entwicklung zu verhelfen. Wohl aber fördert Zusatz von gebranntem Zucker bei reichlicher Hefeaussaat, über 50 Zellen pro 10 ccm, und zwar steigt mit der Aussaatmenge die Hefeernte.

Geringe Spuren organischer Stickstoffverbindungen von einem Minimum von 0,00005 % ab bei Pepton und Harnstoff helfen der einzelnen Hefe über die Schwelle hinweg und ermöglichen Vermehrung. Bei steigender Gabe wächst auch die Hefenernte. Die wachstumfördernde Wirkung von Tannin und Huminsubstanzen ist auf ihren Gehalt an organischen Stickstoffsubstanzen zurückzuführen.

Gleichzeitig ausgesäte Schimmelpilze und Kahmhefen ermöglichen der Hefe offenbar infolge der von ihnen ausgeschiedenen organischen Stickstoffsubstanzen Wachstum und Vermehrung.

Es ist gleichgültig in bezug auf Wachstum und Vermehrung einzeln ausgesäter Hefenzellen in mineralischen gezuckerten Nährlösungen, ob wir der Hefe das Ammonium-Ion an anorganische oder organische Säure gebunden bieten. Es tritt in keinem Falle Wachstum ein.

Einzeln nach den bisherigen Arbeitsmethoden ausgesäte Hefenzellen vermehren sich in mineralischen Nährlösungen nur, wenn ihnen der Stickstoff in organischer Bindung wenn auch nur in Spuren zur Verfügung steht.

3. Kapitel

Unterschiede im Wachstum bei Aussaat einzelner Zellen in mineralische Nährlösung bei Hefen und verwandten Organismen

Wie ich durch meine voraufgegangenen Arbeiten einerseits feststellte und andererseits aus den Kossowiczschen Versuchen (14) ersah, in denen Mykoderma und Schimmelpilze mit Weinhefe zusammen in mineralische Lösung eingesät waren, zur Entwicklung kamen und letzteren das Wachstum ermöglichten, verhalten sich Hefen und die ihnen nächst verwandten Organismen bei Aussaat einzelner Zellen in mineralische Nährlösungen durchaus nicht gleich. Ich stellte daher auf Grund eigener Versuche in diesem Abschnitt das Verhalten derselben zusammen und zwar für

a) Gärende sporenbildende Hefen,
b) Nicht sporenbildende (Torula-)Hefen,
c) Kahmhefen,
d) Schimmelpilze.

a) Gärende sporenbildende Hefen

In den beiden vorhergehenden Kapiteln habe ich diese Frage bereits eingehend behandelt und verweise nur auf deren Inhalt bezw. auf die Zusammenstellung der Ergebnisse am Schlusse jeden Kapitels. Kurz: Bei Aussaat einzelner Zellen gärender sporenbildender Hefe in mineralische Nährlösung tritt Wachstum und Vermehrung nicht ein.

Das Material zu folgenden Versuchen mit nicht sporenbildenden (Torula-)Hefen, Kahmhefen und Schimmelpilzen verschaffte ich mir durch Fangversuche im Garten des hiesigen Institutes (Sommersemester 1917) Den Endomyces fibuliger erhielt ich aus der Sammlung des Herrn Professor Lindner-Berlin.

b) Nicht sporenbildende (Torula-)Hefen

Als Vertreter dieser Art standen mir eine gewöhnliche Torula und eine rosa Hefe zur Verfügung. Durch Gipsblockkulturen überzeugte ich mich davon, daß dieselben nicht imstande waren, Sporen zu bilden. In Bierwürze und Most eingesät trat keine sichtbare Gärung ein. Die Flüssigkeiten trübten sich leicht während der Entwicklung der Hefen. Nach Abschluß derselben setzten sich die Hefen auf den Boden ab, während die Flüssigkeiten wieder klar wurden.

Ich fertigte von diesen Hefen Reinkulturen in Bierwürze an und säte dann nach dem üblichen Verfahren: Zählen in dem Zeißschen Hefezählapparat, Verdünnungen in sterilem Wasser, einzelne Zellen in mineralische Nährlösung aus. Ich verwendete wieder die Laurentsche Lösung. Diese enthielt im Liter: 50 g Zucker, 0,75 g K_2HPO_4, 5,00 g $(NH_4)_2SO_4$ und 0,1 g $MgSO_4$.

Ich verwendete dazu Reagenzgläser, die ich mit je 10 ccm obiger Nährlösung beschickte. Die Aussaatmengen betrugen 1, 5 und 50 Zellen pro 10 ccm. Jede Versuchsreihe wurde fünffach ausgeführt. Die Versuche standen im Brutzimmer bei 25—28° C. Die Kulturen wurden täglich scharf beobachtet und bei den geringsten Spuren von sichtbarer Entwicklung mikroskopiert. Die Ergebnisse stellte ich in Tabelle 7 für Torula und in Tabelle 8 für rosa Hefe zusammen.

Aus den Ergebnissen geht hervor, daß Torula und rosa Hefen bei Aussaat einzelner Zellen in mineralischer Nährlösung wachsen und sich vermehren. Das Einsetzen des Wachstums und die Wachstumsschnelligkeit ist bei beiden Hefen gleich. Bei beiden Hefen zeigen die Kulturen, die mit einer Zelle geimpft wurden, nach 4—6 Tagen Entwicklung, mit fünf Zellen geimpft nach 3—4 Tagen und mit 50 Zellen geimpft nach

3 Tagen. Mit der steigenden Aussaatmenge setzt auch das Wachstum früher ein.

Tabelle 7

Torula-Hefe in mineralischer Nährlösung enthaltend im Liter: 50 g Zucker, 0,75 g K_2HPO_4, 5,00 g $(NH_4)_2SO_4$ und 0,1 g $MgSO_4$ in Reagenzgläsern mit je 10 ccm Inhalt.

Mit einer Zelle geimpft				Mit fünf Zellen geimpft			Mit fünfzig Zellen geimpft	
Nr.	Nach 4 Tagen	Nach 5 Tagen	Nach 6 Tagen	Nr.	Nach 3 Tagen	Nach 4 Tagen	Nr.	Nach 3 Tagen
1	E			1	E		1—5	E
2	—	E		2—5	—	E		
3	—	—						
4	—	E						
5	—	—	E					

E = Eintritt der Entwicklung

Tabelle 8

Rosa Hefe in mineralischer Nährlösung enthaltend im Liter: 50 g Zucker, 0,75 g K_2HPO_4, 5,00 g $(NH_4)_2SO_4$ und 0,1 g $MgSO_4$ in Reagenzgläsern mit je 10 ccm Inhalt.

Mit einer Zelle geimpft				Mit einer Zelle geimpft				Mit fünfzig Zellen geimpft	
Nr.	Nach 4 Tagen	Nach 5 Tagen	Nach 6 Tagen	Nr.	Nach 3 Tagen	Nach 4 Tagen	Nach 5 Tagen	Nr.	Nach 3 Tagen
1	—	—	E	1—3	—	E		1—5	E
2—3	—	E		4	E				
4	E			5	—	—	E		
5	—	E							

E = Eintritt der Entwicklung

c) Kahmhefen

Die Versuche wurden auch hier wie voraufgehend beschrieben angesetzt und eine rein gezüchtete Kahmhefe dazu verwendet. Die Resultate sind in Tabelle 9 zusammengestellt. Bemerken will ich noch, daß ich diese Versuche dahin erweiterte, daß ich sie in einer zweiten Nährlösung durchführte. Während in der bisherigen Nährlösung der Stickstoff in Form von $(NH_4)_2SO_4$ gegeben war, bietet die zweite Nährlösung den Stickstoff in Form von KNO_3. Wenn ich von dieser Art der Stickstoffgabe bei den voraufgegangenen Versuchen an Hefen absah, so tat ich dies, weil dabei nach Laurent (5) infolge der reduzierenden

Wirkung der Hefe das Nitrat in giftiges Nitrit umgewandelt wird. Nach Laurent zieht daher die Hefe die Ammoniaksalze den salpetersauren Salzen ganz entschieden vor. Hier tritt ein neuer Faktor — die Giftwirkung — in Erscheinung, eine Tatsache, die aber außerhalb des Rahmens dieser Ausführungen liegt. Nach Böttger[1]) bildet Kahm aus salpetersauren Salzen nur Nitrit im untergetauchten Zustand, während bei dem typischen Oberflächenwachstum dieser Fall nicht eintritt.

In der Tat habe ich bei meinen Versuchen trotz mehrmaliger Nachprüfung Nitrit nicht nachweisen können. Bei beiden Nährlösungen

1. mit $(NH_4)_2SO_4$
2. mit KNO_3 als Stickstoffquelle

entwickelte sich die Kahmhefe gleich gut. Bei Aussaat einer Zelle tritt bei beiden Nährlösungen nach 3—4 Tagen, bei einer Aussaatmenge von 5 Zellen nach 2—3 Tagen und bei 50 Zellen nach einem Tage Entwicklung auf.

d) Schimmelpilze

Nunmehr gehe ich zu den Schimmelpilzen über als den den Hefen nächstverwandten Organismen. Aus meinen Fangversuchen wählte ich ein Fusarium, das mir besonders günstig erschien. Das Fusarium ist charakterisiert durch die Bildung sichelförmiger Sporen, die sich auf Basidien entwickeln. Das Fusarium bildete auf mineralischer Nährlösung ein weißes Polster, das sich gegen Ende der Entwicklung schwach rosa färbte. Diese Färbung verschwand, sobald der Pilz durch mehrere Generationen hindurch in gezuckerter mineralischer Nährlösung geführt wurde.

Einzelne ausgesäte Sporen entwickelten sich sehr bald zu einem kräftigen Myzel, welches bei gutem Wachstum dauernd auf der Oberfläche der Nährflüssigkeit blieb und eine feste Decke bildete. Das Myzel wächst ähnlich wie Penicillium und bildet Sporen wie diese Pilzgruppe. Bodensatz bildete diese Form so gut wie gar nicht.

Veranlaßt durch den Stammbaum der Hefen nach dem Guillermondschen Schema in Euler-Lindner (25) wählte ich noch als Vertreter der Endomyces-Gruppe den Endomyces fibuliger Lindner, dessen Zusammenhang mit den Hefen erst in neuerer Zeit festgestellt wurde. Gerade aus diesem Grunde erschien es mir wertvoll, denselben in meiner Versuchsreihe aufzunehmen.

[1]) Im hiesigen Institut festgestellt.

Tabelle 9

Kahmhefe in mineralischer Nährlösung enthaltend im Liter: 50 g Zucker, 1,75 g K_2HPO_4, 5,0 g $(NH_4)_2SO_4$ und 0,1 g $MgSO_4$.

Mit einer Zelle geimpft			Mit fünf Zellen geimpft			Mit fünfzig Zellen geimpft	
Nr.	Nach 3 Tagen	Nach 4 Tagen	Nr.	Nach 2 Tagen	Nach 3 Tagen	Nr.	Nach 1 Tag
1—3	E		1—2	E		1—5	E
4—5	—	E	3—5	—	E		

E = Eintritt der Entwicklung.

Tabelle 9

Kahmhefe in mineralischer Nährlösung enthaltend im Liter: 50 g Zucker, 0,75 g K_2HPO_4, 5,0 g KNO_3 und 0,1 $MgSO_4$.

Mit einer Zelle geimpft			Mit fünf Zellen geimpft			Mit fünfzig Zellen geimpft	
Nr.	Nach 3 Tagen	Nach 4 Tagen	Nr.	Nach 2 Tagen	Nach 3 Tagen	Nr.	Nach 1 Tag
1	E		1—4	—	E	1—5	E
2—5	—	E	5	E			

E = Eintritt der Entwicklung.

Endomyces fibuliger von Lindner (20) auf Brot gefunden, erzeugte auf Gelatine rein weiße Flecken und verflüssigte dieselbe schon nach einer Woche (bei 16—17° C) zum Unterschied von Monilia, für welche Verfasser ihn anfänglich gehalten hatte. In Tröpfchenkulturen mit ungehopfter Würze zeigte sich an den wachsenden Fadenstücken sehr bald die bei den Basidiomyceten besonders bekannt gewordene Schnallenbildung. Am Randgebiete bildeten sich kräftige Zellgruppen mit seitlich aussprossenden, hefeähnlichen Konidien. In drei Wochen alten Kulturen fand Verfasser in der Flüssigkeit dicke Decken vom Aussehen durchtränkter Watte und lockere Bodensätze. In diesen befanden sich sehr viel hefeähnliche Zellen, die von den Myzelfäden der Decke abgefallen waren. Am meisten kommt die Konidienform des Pilzes auf festem Nährboden wie Würzeagar zur Ausbildung. Auf der Oberfläche bildet sich hier ein zartes rein weißes Gespinst. Für die Mehrzahl der Konidien ist die traubenkernartige Gestalt charakteristisch.

Eine Häufung der Konidien erfolgt an den Enden der Pilzfäden. Die Sporen kleben zu Massen zusammen.

Bei Luftzutritt wächst die Konidie fädig aus. An zu längeren Fäden ausgewachsenen Seitensprossen sieht man manchmal oidiumartige Aufteilung. Beim Einsetzen der Gärung werden die fadigen Endstücke zum Sproßmyzel.

Der Pilz bildet Ascosporen. Die Größe der Asci schwankt zwischen 17 und 7 μ. Die hutförmigen Sporen haben eine Größe von 7,2—4 μ. Bei der Kleingärmethode zeigten von verschiedenen gebotenen Zuckerarten etliche keine Gärung, etliche leichte Gärung und nur Rohrzucker eine starke Gärung. Verfasser erörtert zum Schluß die Beziehungen dieses Pilzes zu den Hefen der Gattung Willia. Durch das Gärvermögen steht die vorliegende Art den Willia-Hefen sehr nahe, mit ihnen haben sie ebenfalls die hutförmigen Sporen gemein. Die Gärung von Endomyces fibuliger gibt ein ganz schwaches Aroma nach frischen Äpfeln.

Typisch erschienen mir die Sproßkonidien, die der Endomyces fibuliger untergetaucht im Nährsubstrat bildete, im Gegensatz zu der penicilliumartigen Sporenbildung des Myzels bei Fusarium. Diese Konidien haben Hefenform und wurden für die nachfolgenden Versuche zwecks einzelner Aussaat verwendet. Eine Konidie keimt zunächst zu einem strahlenförmig nach allen Seiten auseinandergehenden Myzel aus, welches nach seiner Vollendung wieder hefenartig sprossende Konidien abschnürt.

Wir haben es hier einmal mit einem typischen Schimmelpilz (Fusarium) und das andere Mal mit einer Form zu tun, deren Zusammenhang mit den Hefen nach obigem Stammbaum besteht (Endomyces fibuliger).

Als Nährlösungen verwendete ich wiederum zwei Arten und zwar sowohl für Fusarium als auch für Endomyces fibuliger

1. mit $(NH_4)_2SO_4$ und
2. mit KNO_3 als Stickstoffquelle.

Die beste Übersicht gewinnt man über die Ergebnisse bei Betrachtung der Tabelle 10 Fusarium und Tab. 11 Endomyces fibuliger.

Bei Fusarium tritt ein Unterschied in der Nährlösung mit $(NH_4)_2SO_4$ und jener mit KNO_3 als Stickstoffquelle nicht auf. In beiden Fällen erkennen wir bei Aussaat einer Spore Entwicklung in 2—3 Tagen, bei einer Aussaatmenge von 5 Sporen in 1—3 Tagen und bei 50 Sporen Aussaat schon nach 24 Stunden.

Bei Endomyces fibuliger beobachten wir ebenfalls keinen Unterschied im Wachstum in der einen oder anderen Nährlösung. Bei einer Aussaat von einer Konidie stellen wir Wachstum nach 3—5 Tagen fest, bei 5 Konidien nach 3—4 Tagen und bei 50 Konidien nach 2—3 Tagen. Im Vergleich zum Fusarium ist festzustellen, daß das Wachstum bei Endomyces fibuliger nicht ganz so schnell einsetzt.

Tabelle 10

Fusarium in mineralischer Nährlösung enthaltend im Liter: 50 g Zucker, 0,75 g K_2HPO_4, 5 g $(NH_4)_2SO_4$, 0,1 g $MgSO_4$.

Mit einer Spore geimpft			Mit fünf Sporen geimpft				Mit fünfzig Sporen geimpft	
Nr.	Nach 2 Tagen	Nach 3 Tagen	Nr.	Nach 1 Tagen	Nach 2 Tagen	Nach 3 Tagen	Nr.	Nach 1 Tag
1	—	E	1	E			1—5	E
2 u. 3	E		2 u. 3	—	E			
4 u. 5	—	E	4 u. 5	—	—	E		

E = Eintritt der Entwicklung.

Tabelle 10

Fusarium in mineralischer Nährlösung enthaltend im Liter: 50 g Zucker, 0,75 g K_2HPO_4 5 g KNO_3, 0,1 g $MgSO_4$.

Mit einer Spore geimpft			Mit fünf Sporen geimpft				Mit fünfzig Sporen geimpft	
Nr.	Nach 2 Tagen	Nach 3 Tagen	Nr.	Nach 1 Tagen	Nach 2 Tagen	Nach 3 Tagen	Nr.	Nach 1 Tag
1—2	—	E	1	—	—	E	1—5	E
3	E		2	—	E			
4—5	—	E	3	E				
			4	—	E			
			5	—	—	E		

E = Eintritt der Entwicklung.

Soweit ich auf Grund vorliegender Versuche berechtigt bin, zu schließen, fasse ich zusammen:

a) Gärende sporenbildende Hefen einzeln in mineralische Nährlösung ausgesät, entwickeln sich nicht.

b) Nicht sporenbildende (Torula-)Hefen zeigen einzeln ausgesät in mineralische Nährlösung langsam einsetzendes und schwach fortschreitendes Wachstum. Man erkennt aus der schwächeren Wachstums-Intensität, daß sie mehr zu den gärenden sporenbildenden Hefen neigen.

c) Kahmhefen, einzeln ausgesät, entwickeln sich gut und zeigen nach der Wachstumsintensität beurteilt, mehr Verwandtschaft mit den Schimmelpilzen.

d) Werden Schimmelpilzsporen einzeln ausgesät, so erfolgt die Entwicklung leicht und schnell.

Tabelle 11

Endomyces fibuliger in mineralischer Nährlösung enthaltend im Liter: 50 g Zucker, 0,75 g K_2HPO_4, 5,0 g $(NH_4)_2SO_4$ und 0,1 g $MgSO_4$.

Mit einer Konidie geimpft			Mit fünf Konidien geimpft			Mit fünfzig Konidien geimpft		
Nr.	Nach 3 Tagen	Nach 4 Tagen	Nr.	Nach 3 Tagen	Nach 4 Tagen	Nr.	Nach 2 Tagen	Nach 3 Tagen
1	—	E	1—2	E		1	E	
2	E		3—4	—	E	2	—	E
3—5	—	E	5	E		3—4	E	
						5	—	E

E = Eintritt der Entwicklung.

Tabelle 11

Endomyces fibuliger in mineralischer Nährlösung enthaltend im Liter: 50 g Zucker, 0,75 g K_2HPO_4, 5,0 g KNO_3 und 0,1 g $MgSO_4$.

Mit einer Konidie geimpft				Mit fünf Konidien geimpft			Mit fünfzig Konidien geimpft		
Nr.	Nach 3 Tagen	Nach 4 Tagen	Nach 5 Tagen	Nr.	Nach 3 Tagen	Nach 4 Tagen	Nr.	Nach 2 Tagen	Nach 3 Tagen
1	E			1—3	E		1—2	E	
2—3	—	E		4—5	—	E	3—5	—	E
4—5	—	—	E						

E = Eintritt der Entwicklung.

Für Kahmhefen und Schimmelpilze ist es gleichgültig, ob ihnen die anorganische Stickstoffverbindung in Form von $(NH_4)_2SO_4$ oder KNO_3 geboten werden.

Daß unter ganz gleichen Versuchsbedingungen, gleichen Nährlösungen, Verdünnungs- und Aussaatmethoden bei den Hefen und den ihnen nächst verwandten Organismen so ausgesprochene Unterschiede bestehen, sei hiermit als physiologisches Unterscheidungsmerkmal festgestellt.

Hinsichtlich der Verwandtschaft ergibt sich aus meinen Versuchen an den verschiedenen Sproßpilzen:

Es besteht ein unverkennbarer Zusammenhang zwischen den gärenden sporenbildenden und den nicht sporenbildenden Hefen.

Weit abgerückt von diesen stehen die Kahmhefen. Die Grenze zwischen diesen und den obengenannten Hefen ist besonders scharf ausgeprägt. — An die Kahmhefen schließen sich die Schimmelpilze an, bei denen zweifelsohne in bezug auf ihr Verhalten Verwandtschaft mit den Kahmhefen hervortritt.

Endomyces fibuliger, der nach dem Guilliermondschen Schema in den Stammbaum der Hefen gehört, schließt sich, auf Grund vorliegender Versuche beurteilt, nach seinem Verhalten eng an die Schimmelpilze an und ist weit entfernt von den Hefen.

4. Kapitel

Eine neue Methode, um gärende Hefe bei schwächster Aussaat in mineralischer Nährlösung zur Vermehrung zu bringen

Wir haben bisher erkannt, daß es lediglich die gärenden, sporenbildenden und die Torula-Hefen sind, die im ruhenden Zustande aus einer organischen Lösung in anorganische geimpft, nicht imstande sind zu wachsen und sich zu vermehren. Die Tatsache aber, daß ganz geringe Dosen von organischen Stickstoffverbindungen in mineralischer Nährlösung genügen, um den Verdauungsapparat einer gärfähigen Hefe anspringen zu lassen und dann, wenn er einmal in Tätigkeit ist, ihn in den Stand setzen, auch anorganische Stickstoffverbindungen aufzunehmen und umzusetzen, veranlaßten mich, mich besonders mit diesen Verhältnissen zu beschäftigen.

Ich komme zu dem Schluß, daß wir es hier mit den kompliziertesten Vorgängen im Protoplasma zu tun haben. Besonders in bezug auf den Verdauungsmechanismus kann man die einzelnen Zellen mit Laboratorien vergleichen, deren chemische und mechanische Funktionen uns bisher noch unbekannt geblieben sind.

Es liegt besonders nahe, diesen Verdauungsapparat mit den modernen sehr vollkommenen Verbrennungsmotoren zu vergleichen, wie sie bei Kraftwagen und Flugzeugen Anwendung finden. Die Tätigkeit dieser Konstruktionen aus Menschenhand hat vieles gemein mit dem Verdauungsmechanismus der Zelle, die wir im gewissen Sinne auch als Verbrennungsmotor ansprechen können, namentlich wenn wir das Anspringen eines Verbrennungsmotors vergleichen mit dem Anspringen des Verdauungsmechanismus der Zelle.

Die für leicht vergasbare Brennstoffe wie Benzin eingerichteten Motoren springen nicht an, wenn man ihnen z. B. einen schwerer vergasbaren Brennstoff wie Benzol zuführt. Setzt man indessen den Motor erst mit Benzin (einem leicht vergasbaren Brennstoff) in Gang und führt, ist er einmal in Tätigkeit, Benzol (schwerer vergasbaren Brennstoff) hinzu, so verbrennt er auch diesen. Dieser Vorgang ist zu vergleichen mit jenen Vorgängen, die ich besonders in Kapitel 2 besprochen habe.

In gleicher Weise verhält sich der Verdauungsmechanismus (Verbrennungsmotor) der Hefe. Derselbe springt nicht an, wenn wir die ruhende Hefe aus organischer Lösung in mineralische Nährlösung bringen. Hier findet die Zelle, deren Bau viel komplizierter ist, als die sinnreichsten technischen Gebilde von Menschenhand, anstatt organischer Stickstoffverbindungen nur Stickstoff in anorganischer Verbindung vor. Es ist uns bereits bekannt, daß Hefe anorganische Stickstoffverbindungen schwerer umsetzt, als Stickstoff in organischer Bindungsform. Findet nun aber die Hefe eine Spur organischer Stickstoffverbindungen vor, so sehen wir, daß ihr Verdauungsapparat anspringt, und ist er einmal im Gange, auch anorganische Stickstoffverbindungen assimiliert.

Ich stelle fest, daß es Spuren organischer Stickstoffverbindungen sind, die den Verdauungsorganismus der Hefe anspringen lassen. Nun folgere ich weiter, daß diese es sind, die der Hefe über den toten Punkt hinweghelfen, den Verdauungsapparat in Gang zu bringen.

Der Energieaufwand, der zur Verarbeitung anorganischer Stickstoffverbindungen erforderlich ist, ist entschieden größer als bei der Verarbeitung organischer Stickstoffverbindungen. Wird nun der Hefe eine Spur organischer Stickstoffverbindungen geboten, so bedeutet dies eine Energieersparnis. Die ruhende Hefe besitzt nicht die Energie, anorganische Stickstoffverbindungen zu verarbeiten, wohl aber reicht dieselbe aus, Stickstoff in organischer Form umzusetzen. Damit ist aber der Verdauungsmechanismus in Gang gesetzt, und läuft er einmal, verarbeitet er auch anorganische Stickstoffverbindungen.

Bisher bediente man sich bei der Aussaat der Hefe zweckmäßig einer Ausgangskultur, die sich nicht mehr im Vermehrungs-, sondern im ruhenden Zustande befand, da in letzterem Falle das Zählen und Verdünnen leichter vor sich geht als bei zusammenhängenden Sproßverbänden. Es kamen somit Hefen zur Aussaat, die sich im Ruhestadium befanden, die sich auf dem Boden der Nährflüssigkeit abgesetzt hatten und deren Lebenstätigkeit nur noch eine geringe war, deren Verdauungsapparat somit ruhte. Solche Zellen im ruhenden Zustand aus organischer Nährlösung in anorganische Nährlösung gebracht, kommen in mineralischer Nährlösung nie zur Entwicklung — der Verdauungsapparat springt eben nicht an.

Ist meine Motor-Theorie, auf den Verdauungsapparat der Hefe angewendet, richtig, so müßten Hefenzellen, die sich im Entwicklungsstadium befinden, und die sich noch vermehren und bei denen der Verdauungsapparat noch im vollen Gange ist, einzeln in mineralische Nährlösung gebracht, dort ohne weiteres den anorganisch gebundenen Stickstoff angreifen und verarbeiten. Ich verwendete daher sprossende Hefe, verdünnte, wie bisher üblich, mit sterilem Wasser und schüttelte außerordentlich lange, um die zusammenhängenden Sproßverbände zu trennen. Dann zählte ich erst. Nun erfolgte die Aussaat einzelner Zellen. Das Resultat war ein negatives, die Zellen vermehrten sich nicht, auch mehrfach angesetzte Parallelversuche blieben erfolglos. Lange Zeit vermochte ich mir dieses Ergebnis nicht zu erklären. Es mußte also der Verdauungsapparat während des Schüttelns mit Wasser wieder zum Stillstand gekommen sein. Nun versuchte ich, anstatt wie bisher mit Wasser zu verdünnen, die Verdünnung mit mineralischer 5% Zucker enthaltender Nährlösung vorzunehmen. Ich vermutete, daß durch das plötzliche Eintragen der Hefe aus der organischen Nährlösung in Wasser osmotische Störungen im Protoplasma und somit auch im Verdauungsapparat eingetreten seien. Die osmotischen Störungen dürften eintreten durch Auswaschen organischer Stickstoffverbindungen aus der Hefe. Die so geschwächte Hefe in ein mineralisches Nährmedium gebracht, welches ihr weit weniger zusagt, als organische Nährlösung, kommt dort nicht zur Entwicklung, wohl aber bei Gegenwart kleiner Mengen organisch gebundenen Stickstoffs.

Neue Versuche, die wie folgt ausgeführt wurden, waren von Erfolg gekrönt. Sprossende Hefe aus Bierwürze wurde mit Laurentscher mineralischer Nährlösung verdünnt, gezählt und einzeln ausgesät. Es wurden 30 Erlenmeyerkölbchen mit je 20 ccm mineralischer Nährlösung beschickt.

Letztere enthielt wie immer im Liter: 50 g Zucker, 0,75 g K_2HPO_4, 5,00 g $(NH_4)_2SO_4$ und 0,1 g $MgSO_4$. Dann wurden dieselben nach dem Prinzip der Hansenschen fraktionierten Kultur je mit einer Zelle geimpft. Die Kölbchen standen bei Zimmertemperatur. Nach acht Tagen wurden dieselben geprüft.

Es fanden sich:

ohne Hefenflecken	4	Kölbchen
mit 1 „	23	„
mit 2 „	3	„
	29 Hefenflecke in 30 Kölbchen,	

die Verdünnung war also richtig. Nach 14 Tagen trat sichtbare Gärung ein. Nach 40 Tagen wurde die Hefenernte gezählt; sie ergab 24 Millionen Zellen im ccm.

Diese Versuche wurden mehrfach wiederholt, sie ergaben das gleiche Resultat und bestätigten die Richtigkeit meiner Annahme.

Zur Nachprüfung der bisherigen Ergebnisse setzte ich folgende Versuche in Tröpfchenkulturen nach Lindner an:

Es wurden von jeder Versuchsreihe 3 Präparate mit je 12 Tröpfchen angelegt.

1. Ausgereifte ruhende Weinhefe aus einer Würzekultur, die nach beendeter Gärung sich am Boden abgesetzt hatte, wurde, nachdem sie gezählt war, nach dem bisher üblichen Verdünnungsverfahren mit sterilem Wasser in mineralische Nährlösung derart ausgesät, daß beim Ansetzen von Tröpfchenkulturen durchschnittlich auf je ein Tröpfchen eine Zelle kam. Solche Tröpfchen, in denen mit Sicherheit unter dem Mikroskop nur eine Zelle erkannt war, wurden durch Tintenstriche auf der Oberseite des Deckgläschens markiert. Täglich wurden die Tröpfchen beobachtet, es war jedoch keine Entwicklung zu erkennen. Nach 14 Tagen schloß ich auf Grund der starken Lichtbrechung der Zellen, daß diese abgestorben seien.

Um aber dem Einwand zu begegnen, das Ausgangsmaterial sei zu alt und nicht mehr genügend lebensfähig gewesen, legte ich von dem gleichen Material Tröpfchenkulturen in Würze an. Schon am zweiten Tage war in allen Tröpfchen, die mit einer Zelle beschickt und durch Tinte auf der Außenseite des Deckgläschens markiert waren, rege Sprossung zu erkennen. Nach 4 Tagen waren die Tröpfchen mit Hefenzellen gefüllt.

2. Sprossende Weinhefe aus einer noch in Gärung befindlichen Würzekultur wurde nach der Zählung in der üblichen Weise mit sterilem

Wasser verdünnt und derart in mineralische Nährlösung ausgesät, daß die angestrebte Verteilung von je einer Zelle auf ein Tröpfchen bei den meisten derselben gelang. Solche Tröpfchen, in denen sich mit Bestimmtheit nur eine Zelle befand, wurden wiederum mit einem Tintenpunkt auf der Außenseite des Deckgläschens markiert. Die Präparate wurden täglich beobachtet. Am zweiten Tage stellte ich fest, daß bei mehreren Zellen eine kleine kümmerliche Tochterzelle ausgestülpt wurde, was den Eindruck einer zum Stehen gekommenen Keimung machte. Bis zu 14 Tagen wurde die Beobachtung fortgesetzt, indes eine Weiterentwicklung fand nicht statt.

3. Eine sprossende Weinhefe aus einer in Gärung befindlichen Würzekultur wurde nicht wie bisher mit sterilem Wasser verdünnt, sondern mit mineralischer Nährlösung und zwar derart, daß bei Anfertigung der Tröpfchenkulturen durchschnittlich auf ein Tröpfchen eine Zelle kam. Diejenigen Tröpfchen, in denen nach der Aussaat mit Sicherheit nur eine einzige Zelle erkannt wurde, erhielten auf der Oberseite des Deckgläschens eine Markierung durch einen Tintenpunkt. Bei täglicher Beobachtung konnte ich in allen Tropfen bald Sprossung feststellen. Daß die Entwicklung nicht so üppig war wie bei dem Kontrollversuch mit Würze in der Versuchsreihe 1, erklärt sich ohne weiteres aus den ungünstigeren Lebensbedingungen, welche die Hefe in mineralischer Nährlösung vorfindet. Nach drei Tagen waren in allen Tropfen normal entwickelte Sproßverbände zu beobachten und nach sechs Tagen erkannte ich bereits makroskopisch in jedem Tröpfchen einen deutlich sichtbaren Hefenfleck.

Ein Anfüllen des ganzen Tropfens mit Hefenzellen, wie dies nach vier bis sechs Tagen in Würze der Fall ist, erfolgte selbst nach Verlauf von 14 Tagen nicht. Der Grund dafür liegt, wie ich schon mehrfach erwähnte, darin, daß die Lebensbedingungen in mineralischen Nährlösungen nicht so günstig sind wie in organischen und deshalb die Hefeernte hier geringer ausfällt wie in organischen Nährlösungen.

4. Ich gliederte nun noch einen weiteren Versuch an, um das Verhalten jener anderen Organismen, wie nichtsporenbildende (Torula) Hefen, Kahmhefen und Schimmelpilze einzeln in mineralische Nährlösung ausgesät bei täglicher Beobachtung unter dem Mikroskop im hängenden Tropfen zu prüfen.

Da sich bei den voraufgegangenen Versuchen in Kapitel 3 die oben genannten Organismen alle gleich verhielten, wählte ich zu den nachfolgenden Tröpfchenkulturen die Kahmhefen als Vertreter derselben.

Es wurden wieder wie bei den voraufgehenden Versuchen drei Tröpfchenkulturen im hohlen Objektträger mit je 12 Tröpfchen angelegt. Verdünnung erfolgte nach der alten Methode mit sterilem Wasser, darauf Einsaat in mineralische Nährlösung und Markierung derjenigen Tröpfchen, in denen durch mikroskopische Prüfung nur eine Zelle nachgewiesen wurde, vermittels eines Tintenpunktes auf der Oberfläche des Deckgläschens. Schon am zweiten Tage waren die typischen langen Sproßverbände quer über die Oberfläche des Tröpfchens zu erkennen und nach drei Tagen erstreckte sich die Entwicklung über die gesamte Oberfläche. Auch an dieser Stelle will ich es nicht unerwähnt lassen, wie auffällig es ist, daß sich die Kahmhefe auch in dieser Beziehung diametral anders verhält als die gärenden sporenbildenden Hefen.

Ehe ich zu den Schlußfolgerungen dieses Kapitels übergehe, kann ich es mir nicht versagen, die Pringsheimsche Angewöhnungsmethode zu erwähnen. Bekanntlich gelang es Pringsheim durch mehrmaliges Überimpfen reichlicher Hefenmengen in mineralische gezuckerte Nährlösungen durch mehrere Generationen hindurch die Hefe derart anzupassen, daß einzeln ausgesäte Hefenzellen in mineralischer Lösung zur Entwicklung kamen. Ich prüfte die Pringsheimsche Methode mehrfach nach. Alle von mir in dieser Richtung ausgeführten Versuche mit nach den Vorschlägen Pringsheims vorbereiteter Hefe liefen auf das gleiche Resultat hinaus. Nunmehr will ich versuchen, diese Vorgänge in Beziehung zu setzen mit dem weiter oben ausgeführten Vergleich des Verdauungsmechanismus der Hefe mit dem modernen Verbrennungsmotor der der Technik. Benötigt man in der Technik einen Verbrennungsmotor, der mit schwer vergasbarem Brennstoff arbeiten soll, so konstruiert man seinen Vergaser dementsprechend, man paßt ihm also den Brennstoff an. Dann springt dieser Motor mit dem schwer vergasbaren Brennstoff sogleich an und man hat es nicht nötig, wie bei meinen weiter oben gemachten Ausführungen, ihn erst mit einem leicht vergasbaren Brennstoff auf Touren zu bringen und, läuft er, ihm dann den schwerer vergasbaren Brennstoff zuzuführen, den er dann gleichfalls verbrennt. Er wurde also durch Menschengeist angepaßt. Ganz anders liegt der Fall bei der Hefe; sie besitzt die Fähigkeit, sich selbst anzupassen, d. h. sie vermag ihren Verdauungsapparat (Verbrennungsmotor) auf den schwerer vergasbaren Brennstoff selbst einzustellen – aus eigener Kraft. Daß dies nicht im Handumdrehen möglich ist, ersieht man aus der Notwendigkeit, welche bedingt, daß Pringsheim die Hefe erst durch mehrere Generationen hindurch in mineralischer Nährlösung züchtet.

Nunmehr komme ich zum Abschluß dieses Kapitels. Ich fasse zusammen:

Der Verdauungsapparat der Hefe wird verglichen mit dem modernen Verbrennungsmotor in der Technik. Die Analogie tritt besonders hervor, wenn man das Anspringen des Verdauungsmechanismusses vergleicht mit dem Anspringen des Motors.

Der für einen leicht vergasbaren Brennstoff konstruierte Motor springt nicht an, wenn ihm ein schwer vergasbarer geboten wird. Führt man dem Motor aber zuerst einen leicht vergasbaren Brennstoff zu und, ist er auf Touren gebracht, einen schwerer vergasbaren, so verarbeitet er auch diesen. Ebenso die Hefe. Der Verdauungsapparat kommt nicht in Gang, wenn ihr im ruhenden Zustand Stickstoff in anorganischer Form geboten wird. Enthält aber die Nährflüssigkeit eine Spur N in organischer Form, so springt der Verdauungsapparat an und verarbeitet dann auch anorganische N-Verbindungen.

Einen Motor kann man durch Umbildung des Vergasers für schwer vergasbaren Brennstoff anpassen. Die Hefe besitzt die Fähigkeit — aus sich selbst heraus —, ihren Verdauungsapparat an die Verarbeitung von anorganischen N-Verbindungen zu gewöhnen — Pringsheimsche Angewöhnungsmethode.

Bei der von mir ausgearbeiteten Methode handelt es sich in der Hauptsache darum, den in organischer Nährlösung in Tätigkeit befindlichen Verdauungsmechanismus der Hefe nicht zum Stillstand kommen zu lassen, wie dies einmal bei ruhenden am Ende der Entwicklung befindlichen Hefezellen der Fall ist, oder wie das andere Mal der in voller Tätigkeit befindliche Verdauungsapparat sprossender Hefenzellen durch Schütteln in sterilem Wasser zum Stillstand gebracht wird.

Auf Grund der im Vorstehenden beschriebenen Versuche und im Anschluß daran gemachten Ausführungen brachte ich den Nachweis der Möglichkeit, Hefenzellen, die aus organischen Nährlösungen stammen — ohne Angewöhnung — bei Aussaat einzelner Zellen in mineralischer Nährlösung zur Entwicklung zu bringen. Bedingung ist:

1. Die Verwendung sprossenden in voller Lebenstätigkeit befindlichen Materials im Gegensatz zur Anwendung ausgereifter Hefezellen, wie es bisher üblich war.

2. Ausschaltung von osmotischen Störungen, wie diese bei der bisherigen Verdünnungs- und Schüttelmethode mit destilliertem Wasser eintraten und vermutlich auf der Auswaschung organischer Stickstoffverbindungen beruhten. Statt dessen Anwendung zuckerhaltiger Mineral-

salznährlösung, bei welcher obige Auswaschungen vermieden werden dürften.

Kahmhefe und Schimmelpilze verhalten sich anders. Bei diesen tritt Wachstum bei Aussaat einzelner Zellen in mineralischer Nährlösung ein.

5. Kapitel

Ernährungsphysiologische Versuche an Hefen und Schimmelpilzen in gezuckerten mineralischen Nährlösungen bei schwächster Aussaat

Pringsheims Arbeit (21) „Über die Stickstoffernährung der Hefe“, die einen wertvollen Beitrag zur Ernährungsphysiologie der gärenden sporenbildenden Hefen darstellt, veranlaßte mich zu orientierenden Arbeiten auf gleichem Gebiet an verwandten Organismen wie: nichtsporenbildenden (Torula-)Hefen, Kahmhefen und Schimmelpilzen im Anschluß an meine voraufgegangenen wachstumsphysiologischen Ausführungen. Ich verwendete dazu die uns bereits aus Kapitel 3 bekannten Organismen.

a) Gärende sporenbildende Hefen.

Obwohl diese Hefen bereits eingehend von Pringsheim behandelt wurden, setzte ich noch folgenden Versuch an, um Vergleichswerte für meine weiteren Ausführungen über nichtsporenbildende (Torula-)Hefen, Kahmhefen und Schimmelpilze zu gewinnen.

Als Versuchshefe diente Saccharomyces vini Typus Oppenheimer Kreuz Nr. 2 der hiesigen Sammlung. Die angewendete mineralische Nährlösung enthielt im Liter: 50 g Zucker, 0,75 g K_2HPO_4, 0,10 g $MgSO_4$ und 5,0 g $(NH_4)_2SO_4$.

Durch Destillation mit Magnesia wurde der Gehalt an Ammoniak-Stickstoff genau ermittelt, um Fehlerquellen, die durch irgendwelche Verunreinigungen des $(NH_4)_2SO_4$ entstehen könnten, auszuschalten. Die Stickstoffmenge betrug 119,0 mg in 100 ccm. Die Aussaatmenge betrug 50 Zellen pro 10 ccm d. s. 500 Zellen per Kolben mit je 100 ccm Nährlösung. Die Versuchskolben standen 50 Tage im Brutzimmer bei 25 bis 28° C. Nach Ablauf dieser Zeit wurde der Versuch abgebrochen. Die Ergebnisse sind in Tabelle 12 eingetragen. Zunächst wurde die Anzahl der Zellen in ccm ermittelt, diese betrug 19,5 Millionen. Durch Abfiltrieren der Hefe auf ein gewogenes Filterchen wurde nach fünfstündigem Trocknen bei 105° im Trockenschrank das Gewicht der Hefe-

trockensubstanz auf 16,7 mg bestimmt. Durch Ammoniakdestillation wurde im Filtrat der Rest-Ammoniakstickstoff festgestellt, dieser betrug 110,5 mg. Mithin waren von der Hefe nur 8,5 mg N verbraucht. Dies erschien mir äußerst wenig im Vergleich zu Pringsheims Ergebnissen, doch bei einer so geringen Zuckergabe von nur 5 g auf 100 ccm ist die Kohlenstoffmenge, die der Hefe zur Verfügung stand, eine nur geringe.

Tabelle 12

Stickstoffumsatz der Weinhefe

Aussaatmenge: 50 Zellen pro 10 ccm. Angewendet wurden 100 ccm Nährlösung.

A. Bestandteile in 100 ccm Nährlösung

$(NH_4)_2SO_4$	mg abgewogen	500
Stickstoff	„ bestimmt	119,0
Rohrzucker	„ abgewogen	5000
$MgSO_4$	„ „	10
K_2HPO_4	„ „	75

B. Nach Beendigung des Versuchs

Reststickstoff der Lösung als Ammoniakstickstoff	mg bestimmt	110,5
Ammoniak-Stickstoffverbrauch	„ berechnet	8,5
Hefetrockensubstanz	„ bestimmt	16,7
Zellenzahl im ccm Millionen gezählt		19,5
Organischer Stickstoff in der Hefe	mg bestimmt	3,0
Organischer Stickstoffgehalt der Trockensubstanz	in Prozent	17,7
Organischer Stickstoff der Lösung d. i. Stickstoffabgabe der Hefe	mg berechnet	5,5
Stickstoffgehalt der Lösung: Anorganischer Reststickstoff + Organischer Stickstoff	„ „	116
Verhältnis des Stickstoffgehaltes der Hefe zum Stickstoffverbrauch. Ansatz zu Umsatz		1 : 2,8

Wie bekannt, hängt die Stickstoffassimilation vom Hefewachstum und der Gärung ab, die wiederum von der Zuckerkonzentration beeinflußt werden. Wenn ich berücksichtige, daß Pringsheim 1. mit 15 % Zuckerlösungen, 2. mit stärkeren Aussaaten arbeitete, so finde ich hier die Erklärung für einen geringeren Stickstoffumsatz, als Pringsheim ihn fand. Nach der Kjeldahl-Methode ermittelte ich den Stickstoffgehalt der Hefe mit 3,0 mg. Nun berechnete ich das Verhältnis des Stickstoffgehaltes der Hefe zum Stickstoffverbrauch, d. i. Stickstoff-Ansatz zu Stickstoff-Umsatz: dieser beträgt 1 : 2,8 und paßt zu den Beobachtungen Pringsheims (1 : 3). Erwähnt sei zur Erklärung des Vorstehenden, daß die Hefe nicht allen Stickstoff, den sie aufnimmt, behält. Sie scheidet einen Teil in Form organischer Stickstoffverbindungen wieder aus, der sich

rechnerisch wie folgt ermitteln läßt: Der Ammoniak-Stickstoffverbrauch betrug 8,5 mg. In der Hefetrockensubstanz wurden gefunden 3 mg, somit sind 5,5 mg wieder in Lösung gegangen.

b) Nicht sporenbildende (Torula-)Hefen

Als Vertreter dieser Hefen verwendete ich dieselbe Rosahefe wie oben und als Nährmedium die oben angeführte gezuckerte Mineralsalzlösung. Die Aussaatmenge betrug 5 Zellen pro 100 ccm. Der Versuch wurde doppelt ausgeführt in 250 ccm Erlenmeyer-Kolben, die je mit 100 ccm Nährlösung beschickt wurden. Die Versuchsdauer betrug 50 Tage. Die Kolben standen im Brutzimmer bei 25–28° C.

Tabelle 13

Stickstoffumsatz der Rosahefe.

Aussaatmenge: 5 Zellen pro 100 ccm. Angewendet wurden 100 ccm Nährlösung.

A. Bestandteile in 100 ccm Nährlösung		
$(NH_4)_2SO_4$	mg abgewogen	500
Stickstoff	„ bestimmt	103,5
Zucker	„ abgewogen	5000
$MgSO_4$	„ „	10
K_2HPO_4	„ „	75
B. Nach Beendigung des Versuchs		
Reststickstoff der Lösung als Ammoniakstickstoff	mg bestimmt	97,9
Ammoniak-Stickstoffverbrauch	„ berechnet	5,6
Hefetrockensubstanz	„ bestimmt	10,5
Zellenzahl im ccm Millionen gezählt		18
Organischer Stickstoffgehalt der Hefe	mg bestimmt	1,5
Organischer Stickstoffgehalt der Trockensubstanz	in Prozent	14,3
Organischer Stickstoff in der Lösung d. i. Stickstoffabgabe der Hefe	mg berechnet	4,1
Stickstoffgehalt der Lösung: Anorganischer Reststickstoff + Organischer Stickstoff	„ berechnet	99,4
Verhältnis des Stickstoffgehaltes der Hefe zum Stickstoffverbrauch. Ansatz zu Umsatz		1 : 3,7

Um den Stickstoffverbrauch genau zu ermitteln, wurde genau wie bei dem voraufgegangenen Versuch der Ammoniak-Stickstoffgehalt der Lösung vor dem Versuch und nach Beendigung desselben durch Ammoniakdestillation ermittelt. Tabelle 13 bietet eine Übersicht über die Ergebnisse. Der umgesetzte Stickstoff ist noch geringer als bei der Weinhefe (8,5 mg), er beträgt nur 5,6 mg. Dementsprechend ist auch die Hefetrockensubstanz mit 10,5 mg und die Anzahl der Zellen im ccm mit 18 Millionen geringer, gegen 16,7 mg Trockensubstanz und 19,5

Millionen Zellen im ccm bei der Weinhefe. Zu berücksichtigen wäre dabei noch, daß die Zellen bei der Rosahefe wesentlich kleiner sind als die der Weinhefe, was ja schon zum Ausdruck kommt aus dem beiderseitigen Gewicht der Ernte-Trockensubstanz und der Anzahl der Zellen im ccm. Eigentümlich ist dann nur, daß bei der Rosahefe keine stärkere Vermehrung eintrat.

Die Rosahefe hat selbst nur wenig Stickstoff angesetzt, 1,5 mg, während sie an die Lösung abgab 4,1 mg. Schon Pringsheim stellte Unterschiede zwischen den verschiedenen gärenden sporenbildenden Hefen fest in bezug auf das Verhältnis des Ansatzes zum Umsatz. Bei der vorliegenden Rosahefe ist es 1 : 3,7, während es unter ganz den gleichen Versuchsbedingungen bei Weinhefe 1 : 2,8 betrug. Daraus schließe ich: der Stickstoffumsatz ist bei Weinhefe im Verhältnis zum Ansatz niedriger als bei Rosahefe. Ferner: Weinhefe vermag unter ganz gleichen Lebensbedingungen in mineralischer gezuckerter Nährlösung in der gleichen Menge Trockensubstanz mehr organischen Stickstoff anzusetzen als Rosahefe und scheidet weniger aus als diese.

c) Kahmhefen

Nunmehr wende ich mich den Kahmhefen zu, die mir infolge ihres schnellen und reichlichen Wachstums trotz ganz geringer Einsaat (5 Zellen in 100 ccm) ein vorzügliches Versuchsobjekt boten. Aus diesem Grunde erweiterte ich auch die Versuchsreihen nach verschiedenen Richtungen. Zunächst führte ich einen Versuch in der gleichen Weise wie die voraufgegangenen bei Weinhefe und Rosahefe auch mit Kahmhefe bei Verwendung derselben Reinkultur wie oben durch. Die Lösung ist die gleiche. Die Aussaatmenge betrug 5 Zellen auf 100 ccm Nährsubstrat. In Tabelle 14 sind die Ergebnisse zusammengestellt. Der Versuch wurde schon nach 28 Tagen abgebrochen. Da zu dieser Zeit die Kahmhaut durchfiel, betrachtete ich den Versuch als beendet. Die Reststickstoffbestimmung ergab einen Ammoniak-Stickstoffverbrauch von 48,3 mg pro 100 ccm Nährlösung und die Kahmhefentrockensubstanz betrug 532,5 mg in der gleichen Menge Nährflüssigkeit. Im ccm fand ich 350 Millionen Zellen. Der Stickstoffgehalt der Kahmhefe-Ernte wurde mit 34,2 mg ermittelt. Die Kahmhefe hatte 14,1 mg Stickstoff an die Lösung zurückgegeben. Das Verhältnis des Stickstoffgehaltes der Kahmhefe zum Stickstoffverbrauch, d. i. Ansatz zu Umsatz, berechnet sich danach auf 1 : 1,4. Wenn wir diesem Ergebnis das der Weinhefe mit 1 : 2,8 und der Rosahefe mit 1 : 3,7 gegenüberstellen, so ist die

Tabelle 14

Stickstoffumsatz der Kahmhefe

Aussaatmenge: 5 Zellen pro 100 ccm. Angewendet wurden 100 ccm Nährlösung.

A. Bestandteile in 100 ccm Nährlösung

$(NH_4)_2SO_4$	mg	abgewogen	500
Stickstoff	„	bestimmt	103,5
Zucker	„	abgewogen	5000
$MgSO_4$	„	„	10
K_2HPO_4	„	„	75

B. Nach Beendigung des Versuchs

Reststickstoff der Lösung als Ammoniak-Stickstoff	mg	bestimmt	55,2
Ammoniak-Stickstoffverbrauch	„	berechnet	48,3
Hefetrockensubstanz	„	bestimmt	532,5
Zellenzahl im ccm Millionen gezählt			350
Organischer Stickstoff in der Hefe	mg	bestimmt	34,2
Organischer Stickstoffgehalt der Trockensubstanz	in	Prozent	6,4
Organischer Stickstoff in der Lösung d. i. Stickstoffabgabe der Hefe	mg	berechnet	14,1
Stickstoffgehalt der Lösung: Anorganischer Reststickstoff + Organischer Stickstoff	„	„	69,3
Verhältnis des Stickstoffgehaltes der Hefe zum Stickstoffverbrauch. Ansatz zu Umsatz			1 : 1,4

Kahmhefe als ein Organismus anzusprechen, der anorganische Stickstoffverbindungen vorzüglich in organische Stickstoffverbindungen umsetzt, da sie mehr organischen Stickstoff ansetzt, als sie ausscheidet. Dieses tritt deutlich vor Augen, wenn wir in nachfolgender Tabelle die Ergebnisse von Weinhefe und Rosahefe mit denen der Kahmhefe vergleichen.

	Weinhefe	Rosahefe	Kahmhefe
NH_3-Verbrauch	8,5 mg	5,6 mg	48,3 mg
N in der Hefe	3,0 „	1,5 „	34,3 „
N-Abgabe	5,5 „	4,1 „	14,1 „
Trockensubstanz	16,7 „	10,5 „	532,5 „
N-% in der Hefe	17,7 %	14,3 %	6,4 %

Wie schon weiter oben erwähnt, ist es die Trockensubstanzernte bei Kahmhefe, welche mit 532,5 mg auffallend hervortritt. Dann aber auch der Stickstoffansatz in der Kahmhefe von 34,3 mg: er ist um 11,4 mal größer als bei Weinhefe und um 22,9 mal größer als bei Rosahefe. Wenn auch der Prozentsatz an N in der Kahmhefe wesentlich niedriger ist als bei Wein- und Rosahefe, so ist doch die absolute Menge an organischen Stickstoffverbindungen, welche die Kahmhefe aus der gleichen Menge (100 ccm) Nährflüssigkeit, die bei allen Versuchen

zugrunde lag, der aus anorganischen N-Verbindung umgebildet wurde, ganz bedeutend im Verhältnis zu den Leistungen der Wein- und Rosahefe.

Pringsheim hat das Verhältnis des Stickstoffgehaltes der Weinhefe zu ihrem Stickstoffverbrauch in einer Versuchsreihe mit steigender Stickstoffgabe festgestellt. Er verwendete $(NH_4)_2SO_4$ und fand bei einer Stickstoffgabe von 1210 mg $(NH_4)_2SO_4$ auf 100 ccm mineralische Nährlösung das Verhältnis vom Ansatz zum Umsatz mit 1 : 5,6. Dieses steigt auf 1 : 2,1 bei verminderter Stickstoffgabe bis zu 19 mg $(NH_4)_2SO_4$ auf 100 ccm Nährlösung. Hier tritt bei der höheren Stickstoffgabe eine nicht unbedeutende Luxuskonsumtion an Stickstoff zutage. Pringsheim ermittelte, daß Zellvermehrung sowohl als auch die Gärung ihr Optimum weit unter dem Maximum des Ammoniakverbrauchs der Hefezelle finden.

Das von mir aufgestellte Verhältnis vom Stickstoff-Ansatz zum Stickstoff-Umsatz bei Kahmhefe mit 1 : 1,4 ist außer von Schimmelpilzen, auf welche ich später noch zu sprechen komme, meines Wissens von keinem anderen Organismus erreicht als durch die Kahmhefe. Auch dürfte nach meiner Schätzung der Stickstoff-Ansatz bei Kahm am schnellsten erfolgen. Zieht man außerdem die Leistungen an Kahmhefeneubildung, die als Hefenernte-Trockensubstanz in Tabelle 14 als bedeutende veranschaulicht wird, in Betracht, so dürfte die Bearbeitung dieser Frage nicht nur Anregung, sondern auch Aussicht auf Erfolg bei den gegenwärtigen Bemühungen zur Erzielung eiweißhaltiger Futtermittel in Form von Futterhefe bieten. So erkennen wir aus Tabelle 15, daß wir in 100 ccm einer 5%-Zuckerlösung und einer Gabe von 1280 mg $(NH_4)_2SO_4$ entsprechend 246 mg Stickstoff die hohe Hefenernte von 908,6 mg Kahmhefe-Trockensubstanz erzielen. Aus dieser Tabelle ersehen wir ferner die Einwirkung der Höhe der Stickstoffgabe von einem Minimum von 1,8 mg bis zu 984 mg auf die Kahmernte. Das Hefeernteergebnis steigt von 47,7 mg Trockensubstanz bei einer Stickstoffgabe von 1,8 mg bis auf 908,6 mg pro 100 ccm Nährflüssigkeit wie oben erwähnt, bei 246 mg Stickstoffgabe.

Um diese Ergebnisse jenen der Hefen gegenüberzustellen, stellen wir aus Tabelle 15 fest, daß die Trockensubstanz der Kahmhefeernte bei einer Stickstoffgabe von 123 mg 890 mg beträgt, während in der gleichen Menge Nährflüssigkeit (100 ccm) bei einer Stickstoffgabe von 119 mg eine Ernte-Trockensubstanz erzielt wurde von 16,7 mg bei der Weinhefe und von 10,5 mg bei der Rosahefe.

Bei höherer Stickstoffgabe bis zu 984 mg fällt das Ergebnis der Kahmhefeernte wieder. Die durch den Krieg gebotenen Verhältnisse veranlaßten mich, wegen Gasersparnis von den Stickstoffbestimmungen der Ernten abzusehen, indes können wir uns durch Schlüsse aus voraufgehenden und nachfolgenden Tabellen davon überzeugen, daß dieser durchweg 5—7 % der Trockensubstanz beträgt und bei steigender Kohlenstoffgabe ein wenig steigt und bei verminderter Gabe an Kohlenstoffverbindungen um weniges sinkt. Recht interessant verläuft die Prüfung der Azidität der Nährlösungen vor und nach Beendigung des Versuches. Der Säuregehalt wurde ermittelt bei sämtlichen Lösungen vermittels Titration mit $Ba(OH)_2$. Als bester Indikator erwies sich Lackmuspapier in Verbindung mit der Tüpfelmethode. Der Säuregehalt wurde ausgedrückt in mg H_2SO_4.

Mit steigender $(NH_4)_2SO_4$-Gabe steigt auch der Säuregehalt der Lösungen und zwar steigt er bis zu der $(NH_4)_2SO_4$-Gabe von 1280 mg, bei welcher wir die höchste Hefenernte von 908,6 mg erzielten. Hier enthält die Lösung, in mg H_2SO_4 ausgedrückt, die Maximalmenge von 334,68. Bei der weiteren Steigerung der $(NH_4)_2SO_4$-Gabe sinkt mit der abnehmenden Hefenernte auch der Säuregehalt der Lösungen. Die Lösungen reichern sich nämlich um so mehr an Säure an, je mehr $(NH_4)_2SO_4$ gespalten wird, d. h. je mehr Schwefelsäure aus dieser Verbindung frei gemacht wird, dazu kommt noch der Gehalt an organischer Säure aus dem Umsatz der Kohlenstoffverbindung durch die Kahmhefe. Vielleicht ist es die Anreicherung von Säuren, welche der Kahmhefe in der Entwicklung Einhalt gebietet. Es scheint mir nicht ohne Bedeutung, darauf hinzuweisen, daß hier eventuell die Möglichkeit vorliegt, durch Zusatz von Kalksalzen die frei werdende Schwefelsäure abzubinden zwecks Weiterentwicklung der Kahmhefe zur Erhöhung der Hefeernten.

Nunmehr wende ich mich dem Zuckerverbrauch der Kahmhefe zu. In vorliegender Versuchsreihe ergab die Restzuckerbestimmung, die ich nach der Fehlingschen Methode durch Titration durchführte, daß bei einer Stickstoffgabe von 246 mg 4559 mg Zucker verbraucht waren, während bei einer Stickstoffgabe von 30,8 mg der Zuckerverbrauch 2618 mg und bei einer Stickstoffgabe von 1,8 mg nur 472 mg betrug. In allen Fällen standen der Kahmhefe 4909 mg Zucker zur Verfügung, nur die Stickstoffgabe veränderte sich. Je geringer die Stickstoffgabe, um so geringer ist auch der Zuckerverbrauch. Das energetische Verhältnis, Verhältnis vom Stickstoffumsatz zum Zuckerverbrauch, stellt

Tabelle 15

Stickstoffumsatz der Kahmhefe

Aussaatmenge: 5 Zellen pro 100 ccm. Angewendet wurden 100 ccm Nährlösung mit steigender Ammoniumsulfatgabe als Stickstoffquelle

A. Bestandteile in 100 ccm Nährlösung

$(NH_4)_2SO_4$	mg abgewogen	5120	2560	1280	640	320	160	80	40	20	10
Stickstoff	„ bestimmt	984	492	246	123	61,5	30,8	15,4	7,7	3,6	1,8
Rohrzucker	„ abgewogen	5000	5000	5000	5000	5000	5000	5000	5000	5000	5000
Als Invertzucker nach Fehling	„ bestimmt	4909	4909	4909	4909	4909	4909	4909	4909	4909	4909
$MgSO_4$	„ abgewogen	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
K_2HPO_4	„ „	75	75	75	75	75	75	75	75	75	75
Säure	mg ausgedrückt in H_2SO_4	3,577	2,5	2,352	2,352	2,202	2,202	2,202	2,058	2,058	2,058

B. Nach Beendigung des Versuchs

Reststickstoff der Lösung als Ammoniak-Stickstoff	mg bestimmt	—	—	136	—	—	17	—	—	—	—
Ammoniak-Stickstoffverbrauch	„ berechnet	—	—	110	—	—	13,8	—	—	—	—
Hefetrockensubstanz	„ bestimmt	747,2	839,8	908,6	890,0	282,4	234,5	186,9	163,0	104,0	46,7
Säure	mg ausgedrückt in H_2SO_4	208,6	262,8	334,7	278,4	132,2	121,8	116,6	113,1	85,3	76,6
Restzucker als Invertzucker nach Fehling	mg bestimmt	—	—	350	—	—	2291	—	—	—	4437
Zuckerverbrauch	„ berechnet	—	—	4559	—	—	2618	—	—	—	472
Verhältnis der gebildeten Kahmhefe-Trockensubstanz zum Zuckerverbrauch		—	—	1 : 5	—	—	1 : 11,2	—	—	—	—
Ammoniak-Stickstoffverbrauch für 100 mg gebildete Hefetrockensubstanz	mg	—	—	12,1	—	—	5,8	—	—	—	—
Energetisches Verhältnis. Stickstoffumsatz : Zuckerverbrauch		—	—	1 : 41,4	—	—	1 : 190	—	—	—	—

sich bei einer Stickstoffgabe von 246 mg auf 1 : 41,4, während es bei einer Stickstoffgabe von 30,8 mg 1 : 190 beträgt: also proportional bleibt der Zuckerverbrauch nicht, sondern auf die Einheit umgesetzten Stickstoffs berechnet, steigt er bei fallender Stickstoffgabe.

Der Ammoniak-Stickstoffverbrauch für 100 mg gebildete Kahmhefen-Trockensubstanz beträgt bei einer Stickstoffgabe von 246 mg N 12,1 mg, während er bei einer Stickstoffgabe von 30,8 mg nur 5,8 mg beträgt: hier finden wir, was Pringsheim auch bei Weinhefe feststellte, daß die Kahmhefe bei reichlicher N-Gabe mit Stickstoff Luxuskonsumtion treibt. Das gleiche gilt auch für Zucker. Ich werde darauf an der Hand besonderer zum Nachweis der Zuckerverarbeitung angestellter Versuche zurückkommen.

In der nun folgenden Versuchsreihe sehen wir den Einfluß der steigenden Zuckergabe auf die Kahmhefevermehrung. Die Ergebnisse sind in Tabelle 16 zusammengestellt. Ich verwendete zu diesen Versuchen chemisch reine Dextrose. Die Gabe beginnt bei einer Dosis von 62,5 mg auf 100 ccm Nährlösung und steigt bis auf 5000 mg. Der genaue Zuckergehalt wurde durch Titration nach der Fehlingschen Methode ermittelt. Die Stickstoffgabe war in dieser Versuchsreihe bei allen Versuchen gleich, sie betrug 105,9 mg auf 100 ccm Nährlösung. Auffallend tritt auch hier in Erscheinung, wie mit steigender Zuckergabe die Kahmhefeernte von 6,3 mg bis auf 624,7 mg steigt. Mit steigender Zuckergabe als Energiequelle steigt auch der prozentuale Gehalt an Stickstoff in der Kahmhefe. Bei 500 mg Zuckergabe betrug der Stickstoffgehalt 4,8% und bei 5000 mg Zuckergabe 5,94%. Dieses hängt mit erhöhtem Stickstoffumsatz zusammen, denn im ersteren Falle wurden 11,08 und im letzteren 45,14 mg anorganischer Stickstoff von der Kahmhefe umgesetzt. Das Verhältnis des Stickstoffgehaltes der Kahmhefe zum Stickstoffverbrauch (Ansatz zu Umsatz) ist denn auch bei der Zuckergabe von 5000 g Dextrose das Günstigste, 1 : 1,2, ein Ergebnis, welches uns schon aus einer früheren Versuchsreihe bekannt ist (Tabelle 14). Mit verminderter Zuckergabe verschlechtert sich das Verhältnis von Stickstoffansatz zu Stickstoffumsatz. Es beträgt bei 500 mg Zucker 1 : 2,6 und bei 62,5 mg Zucker 1 : 4.

Der Säuregehalt der Lösungen steigt, ausgedrückt in mg H_2SO_4, von 10,78 bei 62,5 mg Zucker bis auf 170,53 bei 5000 mg Zucker. Je mehr Zucker der Kahmhefe zur Verfügung stand, um so größer war der Energiegewinn, welcher ihr ermöglichte, steigend mehr Stickstoff umsetzen zu können, um so mehr wurde auch $(NH_4)_2SO_4$ gespalten und

Tabelle 16

Stickstoffumsatz der Kahmhefe mit Dextrose als Kohlenstoffquelle. Ausgesät wurden 5 Zellen in 100 ccm Nährlösung

A. Bestandteile in 100 ccm Nährlösung

$(NH_4)_2SO_4$	mg	abgewogen	500	500	500	500	500	500
Stickstoff	„	bestimmt	105,9	105,9	105,9	105,9	105,9	105,9
Dextrose	„	abgewogen	5000	1000	500	250	125	62,5
„ nach Fehling	„	bestimmt	4520	904	452	226	113	56
$MgSO_4$	„	abgewogen	10	10	10	10	10	10
K_2HPO_4	„	„	75	75	75	75	75	75
Säure in H_2SO_4	„	ausgedrückt	2,06	2,06	2,06	2,06	2,06	2,06

B. nach Beendigung des Versuchs

Reststickstoff der Lösung als Ammoniak-Stickstoff	mg	bestimmt	60,76	—	94,82	—	—	104,30
Ammoniak-Stickstoffverbrauch	„	berechnet	45,14	—	11,08	—	—	1,60
Hefetrockensubstanz	„	bestimmt	624,7	118,3	86,9	53,7	13,6	6,3
Säure in H_2SO_4	„	ausgedrückt	170,53	56,35	37,73	31,36	17,05	10,078
Restzuckerbestimmung nach Fehling	„		32	zuckerfrei	zuckerfrei	zuckerfrei	zuckerfrei	zuckerfrei
Dextroseverbrauch	„	berechnet	4488	904	452	226	113	56
Organischer N in der Hefe	„	bestimmt	37,1	—	4,2	—	—	0,4
Organ. N in der Trockensubstanz	%	berechnet	5,94	—	4,8	—	—	—
Organ. N der Lösung d. i. N-Abgabe der Hefe	mg	„	8,04	—	6,88	—	—	1,2
N-Gehalt der Lösung: Anorg. Reststickstoff + Org. Stickstoff	„	„	68,80	—	107,07	—	—	105,5
Verhältnis d. N-Gehaltes der Hefe zum N-Verbrauch. Ansatz zu Umsatz			1 : 1,2	—	1 : 2,8	—	—	1 : 4
Energetisches Verhältnis von Stickstoff-Umsatz zu Zuckerverbrauch			1 : 99,4	—	1 : 38,3	—	—	1 : 35
Ammoniak-Stickstoffverbrauch in mg für 100 mg gebildete Hefetrockensubstanz			7,7	—	12,8	—	—	25,4
Die Kohlenstoffgabe	in mg	berechnet	1808	361,6	180,8	90,4	45,2	22,6
Verhältnis der Kohlenstoffgabe zur Kahmhefetrockensubstanz			1 : 0,35	1 : 0,33	1 : 0,48	1 : 0,59	1 : 0,30	1 : 0,28
Verhältnis der Kohlenstoffgabe zum N-Gehalt d. Kahmhefetrockensubstanz			1 : 0,021	—	1 : 0,023	—	—	1 : 0,018

Schwefelsäure aus dieser Verbindung frei gemacht, dazu kommt noch die Säurebildung der Kahmhefe aus dem Umsatz des Zuckers.

Das energetische Verhältnis von Stickstoffumsatz zu Zuckerverbrauch stellt sich

bei 5000 mg Zuckergabe	auf	1 : 99,4
„ 500 „ „	„	1 : 38,3
„ 62,5 „ „	„	1 : 35

Mit steigender Zuckergabe erhöht sich der Zuckerverbrauch, aber auch quantitativ der Stickstoffumsatz. Pro Einheit umgesetzten Stickstoffs wird steigend mehr Zucker verarbeitet, je größer die Gabe an Zucker ist.

Der Ammoniakstickstoffverbrauch für 100 mg gebildete Kahmhefetrockensubstanz ist bei gleicher Stickstoffgabe

bei 5000 mg Zucker	7,7 mg
„ 500 „ „	12,8 „
„ 62,5 „ „	25,0 „

Je geringer die Zuckergabe ist, um so größer ist der Verbrauch an Stickstoff pro Ernteeinheit. Ist die dargebotene Zuckermenge als Energiequelle verbraucht, so ist anzunehmen, daß sich die Hefenzelle Energie aus der energetisch tieferstehenden Stickstoffquelle verschafft und zwar aus den in die Lösungen entlassenen organischen Stickstoffverbindungen, die als Sekrete aufzufassen sind. Vermittels der gewonnenen Energie dürfte dann die Kahmhefe wieder befähigt sein, Ammoniak-Stickstoff umzusetzen.

Pfeffer (6) spricht vom physiologischen Standpunkt aus von Sekreten und Exkreten. Sekrete bedeuten allgemein Ausscheidungen. Exkrete sind indessen Ausscheidungsprodukte, die ohne Nutzen sind. Nach Pringsheim sind die in die Lösung entlassenen Stickstoffmengen Sekrete und können sicherlich zum Aufbau neuer Zellen dienen. In der Annahme der Richtigkeit der Pringsheimschen Behauptung, wird die Kahmhefe auch aus dem Umsatz der in die Lösungen entlassenen organischen Stickstoffverbindungen Energie zu schöpfen vermögen.

Pringsheim stellt den Stickstoff-Stoffwechsel der Hefe als eine Zwischenstufe von den höheren Pflanzen zu den höheren Tieren dar. Die Pflanzen gewinnen ihre Energie durch Kohlensäureassimilation im Licht und sind dabei befähigt, die geringsten Stickstoffkonzentrationen dem Boden zu entziehen, aufzuspeichern und restlos festzuhalten. Das höhere Tier schöpft seine Energie nicht nur aus dem Zerfall der als Nahrung aufgenommenen Fette und Kohlenhydrate, sondern auch aus

den stickstoffhaltigen Substanzen. Hierbei findet ein fortgesetzter Eiweißabbau statt, der sich normalerweise so vollzieht, daß das Tier im Stickstoffgleichgewicht verbleibt und entsprechend der aufgenommenen Menge Eiweißstickstoff die gleiche Menge Stickstoff im Harn ausscheidet.

Ähnlich ist der Vorgang bei der Hefe. Was Pringsheim bei seinen Versuchen mit der Weinhefe und anderen gärenden sporenbildenden Formen feststellt, gilt nach meinen Versuchen auch für die Kahmhefen.

Die Kahmhefe schöpft ihre Energie aus der Veratmung des Zuckers. Vermittels dieser Energie verarbeitet sie anorganische Stickstoffverbindungen. Einen Teil setzt sie in Form organischer Stickstoffverbindungen in Leibessubstanz um, einen Teil scheidet sie als N-Verbindungen in organischer Form in die Lösung wieder aus. Bei einer so geringen Dosis von Zucker wie 62,5 mg ist das Wachstum bald zu Ende. Der zum Aufbau der Leibessubstanz assimilierte Stickstoff betrug nur 0,4 mg, eine minimale Menge, die noch innerhalb der Fehlergrenze liegt. Indes sehen wir aus der Tabelle 16, daß der in die Lösung entlassene Stickstoff 1,2 mg, also das Dreifache, beträgt. Daraus ist anzunehmen, daß der Stickstoffumsatz nach beendetem Wachstum weitergeht. In besonderen Versuchen (Tabelle 20) werde ich später diesen Vorgang behandeln.

Bei einer Zuckergabe von 500 mg wurden 4,2 mg Stickstoff zum Aufbau der Leibessubstanz benötigt, während der an die Lösung abgegebene Stickstoff nur 6,88 mg betrug.

Ähnlich liegen auch die Verhältnisse bei der Zuckergabe von 5000 mg, bei welcher, wie uns die Trockensubstanzangabe zeigt, erhebliches Wachstum stattfand. Zum Aufbau der Zellen wurden hier 37,1 mg Stickstoff verwendet. Die ausgeschiedene Stickstoffmenge von 8,04 mg ist im Verhältnis hierzu eine geringe. Das Wachstum dürfte indessen, da bei Abbrechen des Versuches noch 32 mg Zucker vorhanden waren, nur verlangsamt, aber nicht ganz beendet gewesen sein, weil noch Energie aus dem Zucker zu beziehen war.

Wäre vorstehender Versuch ein oder zwei Wochen später abgebrochen, dann wäre auch in diesem Falle eine erhöhte Stickstoffabgabe an die Lösung zu verzeichnen gewesen.

Die Kohlenstoffverbindungen dienen der Kahmhefe nicht nur als Energiematerial, sondern sind auch ihrerseits an dem Aufbau der Zellen beteiligt. Inwieweit bei den verschiedenen Zuckergaben der Zucker veratmet oder direkt zum Zellaufbau in Betracht kommt, geht aus dem

Verhältnis der Kohlenstoffgabe zur Kahmhefetrockensubstanz einerseits und der Menge des gebotenen Zuckers anderseits hervor.

Bei der geringsten Zuckergabe von 62,5 mg kommt auf 1 mg Kohlenstoff 0,28 mg gebildete Hefetrockensubstanz. Dann steigt die Hefetrockensubstanz bis auf 0,59 mg pro 1 mg Kohlenstoff bei einer Zuckergabe von 250 mg. Bei den nun steigenden Zuckermengen von 500, 1000 und 5000 mg erfolgt keine Steigerung der Hefenernte pro angewendete Kohlenstoffeinheit mehr, sondern es scheint stärkere Veratmung (Zucker-Luxuskonsumtion in bezug auf die Erntemenge) einzusetzen, denn aus 1 mg Kohlenstoff werden dann nur noch 0,48, 0,33 und 0,35 Hefetrockensubstanz gebildet.

Bei erhöhten Zuckergaben und damit steigender Vermehrung ist die Zuckerveratmung in bezug auf Stickstoffansatz der Kahmhefe praktisch gleich, denn der Unterschied ist minimal, wie aus dem Verhältnis der Kohlenstoffgabe zum Stickstoffgehalt der Kahmhefe horvorgeht. Dieses beträgt bei einer Zuckergabe von

62,5 mg 1 : 0,018 und bei 5000 mg 1 : 0,023.

In einer weiteren Versuchsreihe habe ich die ernährungsphysiologischen Verhältnisse der Kahmhefe bei organischer Säure in Form von Apfelsäure als Energiequelle festzustellen angestrebt, während ich in den bisherigen Versuchen ihr Rohrzucker und Dextrose als Kohlenstoffquelle bot. Siehe Tabelle 17. Von einer Dosis von 62,5 mg steigt die Apfelsäuregabe bis auf 1000 mg und die Hefenernte von 4 mg bis auf 152,3. Um einen Vergleich zwischen der gleichen Gabe Dextrose und Apfelsäure exakt durchzuführen, ist es erforderlich, in beiden Fällen die gebotenen Mengen an Kohlenstoff zu berechnen und dann die Hefenernten gegenüberzustellen.

Dextrosegabe		Hefenernte	Apfelsäuregabe		Hefenernte
in mg	enthaltend mg Kohlenstoff	in mg	in mg	enthaltend mg Kohlenstoff	in mg
62,5	22,6	6,3	62,5	22,38	4,0
125	45,2	13,6	125	44,77	9,2
250	90,4	53,7	250	89,55	48,0
500	180,8	86,9	500	179,1	84,8
1000	361,6	118,3	1000	358,2	152,3

Wenn wir diese Aufstellungen miteinander vergleichen, so kommen wir zu dem Schluß, daß ein wesentlicher Unterschied in der Hefenernte je nach der Art der Kohlenstoffgabe, ob Dextrose- oder Apfelsäuregabe, nicht besteht. Soweit mit den übrigen Ergebnissen ein Vergleich möglich ist, kommen wir zu dem Schluß, daß auch hier Übereinstimmung

herrscht, wie dies z. B. aus dem Vergleich der Verhältnisse der Kohlenstoffgabe zur Kahmhefetrockensubstanz hervorgeht. Es ist also gleich, ob wir der Kahmhefe als Kohlenstoffquelle Zucker oder organische Säure in Form von Apfelsäure bieten.

Tabelle 17

Stickstoffumsatz der Kahmhefe mit Apfelsäure als Kohlenstoffquelle. Ausgesät wurden 5 Zellen in 100 ccm Nährlösung.

A. Bestandteile in 100 ccm Nährlösung

$(NH_4)_2SO_4$ . . . mg abgewogen	500	500	500	500	500
Stickstoff . . . „ bestimmt	105,9	105,9	105,9	105,9	105,9
Apfelsäure . . „ abgewogen	1000	500	250	125	62,5
Säure in H_2SO_4 . „ ausgedrückt	80,46	40,52	23,91	7,01	3,52
$MgSO_4$ . . . . „ abgewogen	10	10	10	10	10
K_2HPO_4 . . . „ „	75	75	75	75	75

B. Nach Beendigung des Versuchs

Reststickstoff der Lösnng als Ammoniak-Stickstoff mg bestimmt	80,00	—	100,4	—	104,1
Ammoniak-Stickstoffverbrauch mg berechnet	25,90	—	5,5	—	1,8
Hefetrockensubstanz „ bestimmt	152,3	84,8	48,0	9,2	4,0
Organischer N in der Hefe mg bestimmt	11,38	—	2,0	—	0,4
Organischer N in der Trockensubstanz . . in Prozent berechnet	7,5	—	4,2	—	—
Organischer N der Lösung, d. i. N-Abgabe der Hefe mg berechnet	14,52	—	3,5	—	1,4
N-Gehalt der Lösung: Anorganischer Reststickstoff + Organischer Stickstoff mg berechnet	94,52	—	103,4	—	104,79
Verhältnis des N-Gehalts der Hefe zum N-Verbrauch. Ansatz zu Umsatz	1 : 2,3	—	1 : 2,8	—	1 : 4,5
Säure in H_2SO_4 mg ausgedrückt	63,20	33,32	20,58	14,21	11,26
Ammoniak-Stickstoffverbrauch in mg für 100 mg gebildete Hefetrockensubstanz	17	—	11,5	—	45
Kohlenstoffgabe in mg berechnet	358,2	179,1	89,55	44,77	22,38
Verhältnis der Kohlenstoffgabe zur Hefe-Trockensubstanz	1 : 0,43	1 : 0,47	1 : 0,54	1 : 0,21	1 : 0,18
Verhältnis der Kohlenstoffgabe zum N-Gehalt der Hefetrockensubstanz	1 : 0,032	—	1 : 0,022	—	1 : 0,018

Da wir im Kahm einen typisch aerobiotischen Organismus vor uns haben, so lag es mir daran, festzustellen, inwieweit Zuckerverbrauch,

Hefenernte und Stickstoffumsatz durch die Größe der Oberfläche beeinflußt wird. Zur Verwendung kamen zwei Nährlösungen mit 100 und 222 mg Stickstoff in 100 ccm Nährlösung. Als Kohlenstoffquelle diente Rohrzucker. Von jeder dieser Nährlösungen wurde eine Kultur in einem Erlenmeyerkolben mit einer Flüssigkeitsoberfläche von 70 mm Durchmesser und ein zweiter mit einer Flüssigkeitsoberfläche von 160 mm Durchmesser je mit 5 Zellen Kahm geimpft. Die Zusammenstellung der Ergebnisse zeigt Tabelle 18.

Tabelle 18

Kahmhefe bei geringer und und großer Oberfläche gewachsen mit verschiedener Stickstoffgabe. Aussaatmenge: 5 Zellen pro 100 ccm.

A. Bestandteile in 100 ccm Nährlösung					
$(NH_4)_2SO_4$	mg abgewogen	500	500	1000	1000
Stickstoff	„ bestimmt	100,2	100,2	222	222
Rohrzucker	„ abgewogen	5000	5000	5000	5000
Als Invertzucker nach Fehling	„ bestimmt	4909	4909	4909	4909
$MgSO_4$	„ abgewogen	10	10	10	10
K_2HPO_4	„ „	75	75	75	75
Durchmesser der Oberfläche der Nährflüssigkeit in mm		160	70	160	70
B. Nach Beendigung des Versuchs					
Reststickstoff der Lösung als Ammoniak-Stickstoff	mg bestimmt	58,0	51,6	119,1	111
Ammoniak-Stickstoffverbrauch	„ berechnet	42,2	48,6	103,9	111
Hefetrockensubstanz	„ bestimmt	470,9	540,3	833,0	1164,6
Organischer Stickstoff i. d. Hefe	„ „	31,8	35,87	59,84	64,59
Organischer Stickstoffgehalt der Trockensubstanz	in Prozent	7,0	6,6	7,2	5,7
Organischer Stickstoff der Lösung, d. i. Stickstoffabgabe der Hefe . . .	mg berechnet	10,04	12,73	43,06	46,41
Stickstoffgehalt der Lösung: Anorganischer Reststickstoff + Organischer Stickstoff	mg berechnet	68,40	64,33	162,16	157,41
Restzucker als Invertzucker nach Fehling	mg bestimmt	400	524	zuckerfrei	zuckerfrei
Zuckerverbrauch	„ berechnet	4509	4385	4909	4909
Energetisches Verhältnis. Stickstoffumsatz: Zuckerverbrauch		1 : 106,8	1 : 90,2	1 : 47,2	1 : 44,2
Verhältnis des Stickstoffgehaltes der Hefe zum Stickstoffverbrauch. Ansatz zu Umsatz		1 : 1,3	1 : 1,4	1 : 1,7	1 : 1,7

Wenden wir uns zunächst der Nährlösung, die 100,2 mg Stickstoff enthält, zu, so fällt uns auf, daß bei größerer Oberfläche auch der Zuckerverbrauch größer ist als bei der kleineren Oberfläche. Bei einer

Oberfläche von 160 mm Durchmesser wurden 4509 mg Zucker verarbeitet und bei 70 mm Oberflächendurchmesser 4385 in 100 ccm Nährlösung. Die Hefetrockensubstanz ist bei größerer Oberfläche geringer als bei kleinerer. Hier tritt in Erscheinung, was ich schon bei einer voraufgegangenen Versuchsreihe zum Ausdruck brachte, daß, je größer der zur Veratmung verbrauchte Zuckeranteil ist, um so geringer fällt derjenige Anteil aus, der zum Aufbau neuer Hefesubstanz verbleibt. Als Folge davon ist anzusehen, daß in der Kultur mit geringerer Oberfläche und größerer Hefenernte auch der Stickstoffansatz und Stickstoffumsatz größer ist als in der Kultur mit größerer Oberfläche.

Bei 70 mm Oberflächendurchmesser beträgt der Stickstoffansatz (der Stickstoffgehalt der Kahmhefe) 35,87 mg und der Stickstoffumsatz 48,6. Bei 160 mm Durchmesser notieren wir einen Ansatz von nur 31,8 mg und einen Stickstoffumsatz von 42,2 mg. Das energetische Verhältnis Stickstoffumsatz zu Zuckerverbrauch zeigt, auf die Einheit umgesetzten Stickstoffs berechnet, daß der Zuckerverbrauch bei größerer Oberfläche größer ist als bei kleinerer. Es stellt sich bei 100,2 mg N-Gabe und 160 mm Oberflächendurchmesser auf 1 : 106,8 und bei 70 mm Oberflächendurchmesser auf 1 : 90,2 ein. Das Verhältnis von Stickstoffansatz zum Stickstoffumsatz bleibt mit 1 : 1,3 bezw. 1 : 1,4 wesentlich das gleiche.

Bei der Nährlösung mit 222 mg N, der doppelten Gabe an Stickstoff, haben wir im allgemeinen dieselben Erscheinungen. Zunächst bei größerer Oberfläche stärkere Zuckerveratmung als bei kleinerer Oberfläche. Aus der Restzuckerbestimmung ist dies ohne weiteres nicht ersichtlich, da beide Lösungen nach Beendigung des Versuches zuckerfrei waren. Betrachten wir aber die Kahmhefeernten, so erkennen wir, daß bei der Kultur mit 70 mm Oberflächendurchmesser 1164,6 mg Kahmhefetrockensubstanz und bei der Kultur mit 160 mm Oberflächendurchmesser nur 833,00 mg Kahmhefetrockensubstanz gebildet wurden. In ersterem Falle bei geringerer Oberfläche war der Zuckeranteil, der zum Zellaufbau verblieb, größer als im zweiten Fall, bei welchem infolge größerer Oberfläche auch mehr Zucker veratmet wurde und der Anteil zum Zellaufbau geringer ausfiel.

Der Stickstoffumsatz ist auch hier bei der Kultur mit kleinerer Oberfläche und größerer Hefenernte größer als bei der Kultur mit großer Oberfläche und kleinerer Hefenernte. Dementsprechend verhält es sich auch mit dem Stickstoffansatz. Bei 160 mm Oberflächendurchmesser 59,84 mg und bei 70 mm Oberflächendurchmesser 64,59 mg Stickstoffansatz.

Das energetische Verhältnis Stickstoffumsatz zu Zuckerverbrauch auf 1 mg umgesetzten Stickstoff berechnet, ergibt bei 160 mm Oberflächendurchmesser 1 : 47,2 und bei 70 mm Oberfächendurchmesser 1:44,2 und zeigt uns wiederum den größeren Zuckerverbrauch bei größerer Oberfläche.

Das Verhältnis des Stickstoffgehaltes der Kahmhefe zum Stickstoffverbrauch (Ansatz zu Umsatz) ist wie bei der anderen Reihe wieder gleich, es beträgt bei großer wie kleiner Oberfläche 1 : 1,7.

Vergleichen wir nun die beiden Versuchsreihen mit 100,2 mg und 222 mg Stickstoffgabe untereinander, so kommen wir zu dem Schluß: Es ist ohne Bedeutung für den prozentualen Stickstoffgehalt der Kahmhefe, ob dieselbe mit viel oder wenig Stickstoff gedüngt wird. So ersehen wir denn aus Tabelle 18, daß der Stickstoffgehalt bei allen Versuchen, ob 100,2 oder 222 mg N-Gabe, ob kleine oder große Oberfläche, nur zwischen 6 und 7 % schwankt.

Pringsheim stellte bereits für sporenbildende gärfähige Hefen den Satz auf: „Der Stickstoffgehalt der Hefenernte ist von der Konzentration der Lösung an Stickstoff ziemlich unabhängig". Durch meine obigen Versuche stellte ich die gleiche Gesetzmäßigkeit auch für Kahmhefen fest.

Scharf davon zu unterscheiden ist die Tatsache, daß bei gesteigerter Stickstoffgabe die absolute Ernte an Kahm steigt, so daß durch eine größere Stickstoffgabe auch eine größere Ernte an organischem Stickstoff erzielt wird. Der prozentuale Stickstoffgehalt der Kahmhefe bleibt aber davon unberührt.

In den voraufgegangenen Versuchen war verschiedentlich zu ersehen, daß, wenn einerseits die Entwicklung der Kahmhefen, anderseits die Stickstoffassimilation bereits abgeschlossen war, der Zuckerverbrauch weiter fortging. Wir haben es hier mit Zuckerveratmung zu tun.

Das Ziel der nachfolgenden Versuchsreihen ist, zum Zwecke des vollen Verständnisses für diesen Vorgang, die Sache in einigen besonderen Versuchen anzufassen und zu beleuchten.

Zunächst wurden (siehe Tabelle 19) drei Erlenmeierkolben je mit 100 ccm mineralischer Nährlösung beschickt, die 5, 10 und 15 % Dextrose enthielten. Der genaue Zuckergehalt wurde durch Titration nach Fehling ermittelt

auf 4 940 mg
9 880 „
14 820 „

Tabelle 19.

Kahmhefe.

Aussaatmenge: 5 Zellen pro 100 ccm Nährlösung. Angewendet wurden 100 ccm Nährlösung mit

1. 5 % Dextrose,
2. 10 % Dextrose und
3. 15 % Dextrose.

			1.	2.	3.
A. Bestandteile in 100 ccm Nährlösung					
$(NH_4)_2SO_4$	mg	abgewogen	500	500	500
Stickstoff	„	bestimmt	100,2	100,2	100,2
Dextrose	„	abgewogen	5000	10000	15000
Dextrose nach Fehling	„	bestimmt	4940	9880	14820
$MgSO_4$	„	abgewogen	10	10	10
K_2HPO_4	„	„	75	75	75
B. Nach Beendigung des Versuchs					
Hefetrockensubstanz	mg	bestimmt	564,0	562,0	608,4
Restzucker nach Fehling	„	„	zuckerfrei	zuckerfrei	4000
Zuckerverbrauch	„	berechnet	4940	9880	10820

Die Kolben wurden wie bei den vorhergehenden Versuchen mit je 5 Zellen Kahmhefe geimpft. Nach 21 Tagen wurde der Versuch abgebrochen, der Zuckerverbrauch ermittelt und durch Abfiltrieren auf gewogenen Filterchen nach fünfstündigem Trocknen bei 105° C die Hefetrockensubstanz bestimmt. Die 5 und 10 % Dextroselösung war zuckerfrei, aller darin befindlicher Zucker war verarbeitet, aber trotz ihres wesentlichen Unterschiedes im Zuckergehalt war die erzielte Hefetrockensubstanz bei beiden gleich, sie betrug 564,0 und 562,5 mg. Im zweiten Falle waren also rund 5 % Zucker mehr veratmet, ohne daß eine Erhöhung der Hefenmenge stattgefunden hatte, ein typisches Beispiel für Zucker-Luxuskonsumtion, d. h. in bezug auf die Hefeernte, denn der verbrauchte Zucker diente lediglich der Atmung und somit nur zur Erhaltung des Lebens der Kahmhefe.

Im dritten Versuch wurden von den ursprünglichen 14820 mg Zucker noch 4000 mg in der Lösung vorgefunden. Auch hier betrug das Gewicht der Hefetrockensubstanz nur 6084 mg, war also praktisch ziemlich gleich mit den vorhergehenden Resultaten. Wäre der Versuch eine Woche später abgebrochen worden, so wären wahrscheinlich auch die restlichen 4000 mg auf dem Wege der Veratmung verschwunden.

An diese Versuche anschließend wurde eine neue Versuchsreihe angesetzt und zwar 6 Erlenmeyer-Kolben, je beschickt mit 100 ccm mineralischer Nährlösung. Die Ergebnisse sind in Tabelle 20 zusammengestellt. Die Nährlösung enthielt 15 % Dextrose. Genau durch die

Fehlingsche Bestimmungsmethode ermittelt, betrug der Zuckergehalt pro Kolben 14299 mg. Die Versuchskolben wurden gleichzeitig geimpft mit je 5 Zellen. Der 1. Kolben wurde nach drei Tagen analysiert

der 2. nach 5 Tagen
„ 3. „ 7 „
„ 4. „ 9 „
„ 5. „ 14 „
„ 5. „ 30 „

Tabelle 20

Kahmhefe

Aussaatmenge: 5 Zellen pro 100 ccm Nährlösung. Angewendet wurden 100 ccm Nährlösung mit 15 % Dextrose.

A. Bestandteile in 100 ccm Nährlösung

$(NH_4)_2SO_4$ . . . mg	abgewogen	500	500	500	500	500	500
Stickstoff . . . „	bestimmt	88,90	88,90	88,90	99,90	88,90	88,90
Dextrose . . . . „	abgewogen	15000	15000	15000	15000	15000	15000
„ nach Fehling „	bestimmt	14299	14299	14299	14299	14299	14299
$MgSO_4$ . . . . „	abgewogen	10	10	10	10	10	10
K_2HPO_4 . . . . „	„	75	75	75	75	75	75

B. Nach Beendigung des Versuchs

Die Versuche wurden abgebrochen	nach 3 Tagen	nach 5 Tagen	nach 7 Tagen	nach 9 Tagen	nach 14 Tagen	nach 30 Tagen
Hefetrockensubstanz mg bestimmt	312,4	395,5	512,6	534,9	596,3	605,5
Restzucker nach Fehling mg bestimmt	13342	11420	10000	6153	4251	zuckerfrei
Dextroseverbrauch . „ berechnet	987	2879	4299	8136	10048	14299
Reststickstoff der Lösung als Ammoniak-Stickstoff mg bestimmt	70	64,5	60,5	60,2	60,00	44,00
Ammoniak-Stickstoffverbrauch mg berechnet	18,9	24,4	28,4	28,7	28,9	44,9

Es wurden Stickstoffumsatz und Zuckerverbrauch bestimmt. Aus der Tabelle 20 ist ersichtlich, daß nach 9 Tagen die Hefeentwicklung mit 534,9 mg nahezu beendet war, nach 14 Tagen betrug dieselbe 596,3 und nach 30 Tagen 605,5 mg. Bis zum 9. Tage waren 8136 mg Zucker verarbeitet und am 30. Tage war die Lösung zuckerfrei. In der Zeit vom 9. Tage bis zum 30. Tage betrieb die Kahmhefe den Zuckerverbrauch lediglich zum Zwecke der Veratmung. Es wurden in dieser Zeit noch 6163 mg Zucker veratmet, ohne die Hefenernte wesentlich zu erhöhen.

Pro 100 mg erzeugte Trockensubstanz wurden an Zucker verarbeitet in mg

	3 Tagen	5 Tagen	7 Tagen	9 Tagen	14 Tagen	30 Tagen
nach:	306	728	839	1521	1685	2362

Aus dieser Aufstellung ist ersichtlich, daß der Zuckerverbrauch mit jedem Tage pro 100 mg erzeugte Trockensubstanz rapid steigt. Dies erklärt sich durch die größere Menge der zuckerveratmenden Hefenernte.

Ähnlich verhält es sich mit dem Stickstoff. Hier liegt nach Beendigung der Entwicklung der Kahmhefe Stickstoff-Luxuskonsumtion vor. Am 14. Tage waren 28,9 mg Stickstoff verbraucht und am 30. Tage 44,90 mg.

Zum Aufbau der Leibessubstanz war dieser Stickstoff nicht erforderlich. Ferner wissen wir aus meinen voraufgegangenen Versuchen, daß es ohne Bedeutung ist, ob wir der Kahmhefe viel oder wenig Stickstoff zuführen, der Prozentgehalt an Stickstoff wird dadurch nicht beeinflußt, er verbleibt zwischen 6 und 7%. Ich habe ferner in diesen Versuchen nachgewiesen, daß nach bereits beendeter Entwicklung noch Stickstoffumsatz stattfindet. Meine früheren Versuche zeigten, daß dabei Stickstoff in organischer Form von der Kahmhefe in die Lösung ausgeschieden wird. Hier tritt die Analogie mit dem Tierkörper auf. Diese voraufgegangenen Ermittelungen machten die Bestimmungen des löslichen organischen Stickstoffs in der Nährlösung und des organischen Stickstoffs in der Kahmhefe überflüssig, was in Anbetracht des herrschenden Gasmangels zu begrüßen war.

Damit schließe ich die nach den verschiedenen Richtungen erweiterten Versuche über die Kahmhefen ab, um mit einem orientierenden Versuch noch den Schimmelpilzen gerecht zu werden.

d) Schimmelpilze

Als Vertreter der Schimmelpilze verwendete ich wie oben ein Fusarium aus meinen Fangversuchen im Garten des hiesigen Institutes. Als Nährlösung diente dieselbe gezuckerte mineralische Nährsalzlösung, die auch den voraufgehenden Versuchen zugrunde lag. Wie dort wurde auch hier vor dem Versuch der genaue Stickstoffgehalt durch Destillation mit Magnesia ermittelt. Tabelle 21 gibt einen Überblick über die ausgeführten Arbeiten.

Der Versuch wurde nach 30 Tagen abgebrochen. Zunächst wurde durch Abfiltrieren durch ein gewogenes Filterchen und fünfstündiges Trocknen bei 105° C die Fusarium-Trockensubstanz bestimmt. Die Ernte betrug 1436 mg. Der Stickstoffgehalt derselben wurde nach der Kjeldahlmethode ermittelt, derselbe belief sich auf 62,9 mg. Das Filtrat wurde

auf den noch vorhandenen Reststickstoff untersucht und vermittelst Ammoniakdestillation der Stickstoffgehalt der Lösung einerseits mit 24,4 mg und der Stickstoffverbrauch des Fusariums anderseits durch Berechnung mit 79,1 mg festgestellt. Wie die gärenden sporenbildenden (Torula-)Hefen und Kahmhefen setzen auch die Schimmelpilze mehr Stickstoff um, als sie zum Aufbau ihrer Leibessubstanz benötigen. Sie entlassen dann diesen Stickstoff wieder in die Nährlösung. Der Stickstoffumsatz betrug bei Fusarium 79,1 mg, der Stickstoffansatz in dem Pilz war 62,9 mg, somit wurden 16,2 mg Stickstoff wieder an die Lösung abgegeben.

Tabelle 21

Stickstoffumsatz von Fusarium

Aussaatmenge: 5 Sporen pro 100 ccm Nährlösung. Angewendet wurden 100 ccm Nährlösung.

A. Bestandteile in 100 ccm Nährlösung			
$(NH_4)_2SO_4$	mg	abgewogen	500
Stickstoff	„	bestimmt	103,5
Rohrzucker	„	abgewogen	5000
$MgSO_4$	„	„	10
K_2HPO_4	„	„	75
B. Nach Beendigung des Versuchs			
Reststickstoff der Lösung als Ammoniak-Stickstoff	„	bestimmt	24,4
Ammoniak-Stickstoffverbrauch	„	berechnet	79,1
Fusarium-Trockensubstanz	„	bestimmt	1436
Organischer Stickstoff in der Fusarium-Trockensubstanz	„	„	62,9
Organischer Stickstoff der Lösung, d. i. Stickstoffabgabe des Fusarium	„	berechnet	16,2
Stickstoffgehalt der Lösung: Anorganischer Reststickstoff + Organischer Stickstoff	„	„	40,6
Verhältnis des Stickstoffgehaltes des Fusariums zum Stickstoffverbrauch. Ansatz zu Umsatz			1 : 1,3

Das Verhältnis von Stickstoffansatz zum Stickstoffumsatz, d. h. der Stickstoffgehalt des Fusariums zum Stickstoffverbrauch derselben beträgt 1 : 1,3. Nächst den Kahmhefen sind es die Schimmelpilze, die vorzüglich geeignet sind, anorganischen Stickstoff in organischen Stickstoff umzusetzen.

Nunmehr will ich mit einigen Worten den Inhalt dieses Kapitels zusammenfassen.

Von den vorliegenden Organismen betrug das Verhältnis des Stickstoffansatzes zum Stickstoffumsatz:

1 : 2,8 bei gärenden sporenbildenden Hefen
1 : 3,7 „ nichtsporenbildenden (Torula-)Hefen
1 : 1,3 „ Kahmhefen
1 : 1,3 „ Schimmelpilzen

wie ich auf Grund meiner Versuche unter gleichen Bedingungen und in gleichen Nährlösungen feststellte. Hiernach eignen sich die Kahmhefen am besten zur Gewinnung eines eiweißhaltigen Futtermittels, weil sie den anorganischen Stickstoff bei guter Ausbeute in organischen Stickstoff umsetzen, zumal wegen ihrer Wachstumsschnelligkeit. Die Schimmelpilze scheiden für diesen Zweck vorläufig aus, da sie vom Vieh wegen ihres Geschmackes nicht angenommen werden dürften. Bei den sporenbildenden und nichtsporenbildenden Hefen ist der angesetzte Stickstoff im Verhältnis zum umgesetzten Stickstoff wesentlich geringer als bei der Kahmhefe. Auch bedingen die Hefen einen wesentlich größeren Zuckerverbrauch als die Kahmhefe.

Bei der gleichen Zuckergabe von 5000 mg pro 100 ccm Nährlösung wurden erzeugt:

Von der Weinhefe	16,7 mg Trockensubstanz
„ „ „	10,5 „ „
„ „ Kahmhefe	532,9 „ „

Aus Tabelle 12—14 sehen wir, daß bei gleicher Stickstoff- und Zuckergabe produziert werden:

	Trockensubstanz	N i. d. Trockensubstanz
von der Weinhefe	16,7 mg	3,0 mg
„ „ Rosahefe	10,5 „	1,5 „
„ „ Kahmhefe	532,5 „	34,3 „

Diese Aufstellung zeigt wiederum die Vorteile der Kahmhefe, die bei gleicher Zuckergabe eine weitaus größere Menge Trockensubstanz produziert als Wein- und Rosahefe.

Für Kahmhefen stellte ich fest, daß Steigerung der Stickstoffgabe auch die absolute Menge der Hefenernte steigert.

Für den prozentualen Gehalt an Stickstoff der Kahmhefe ist es ohne Bedeutung, ob mit viel oder wenig Stickstoff gedüngt wird.

Ist das Wachstum der Kahmhefe beendet, so treibt dieselbe mit dem überschüssigen Ammoniak-Stickstoff Luxuskonsumtion, eine Beobachtung, die Pringsheim bei Hefen machte.

Die Zuckerkonzentration ist von einem Minimum von 5% an, das für den Aufbau der Leibessubstanz der Hefe erforderlich ist, ohne Einfluß auf die Hefenernte. Dieselbe wird durch Erhöhung der Zuckergabe nicht gesteigert. Der Zucker wird restlos veratmet. — Hier liegt Zucker-Luxuskonsumtion vor in bezug auf Hefenernte und Stickstoffgehalt derselben.

Je geringer die Zuckergabe, um so größer ist der Ammoniakstickstoffverbrauch pro 100 mg gebildete Kahmhefe-Trockensubstanz. Der nicht in der Zelle angesetzte Stickstoff wird wieder ausgeschieden.

Die Kahmhefe verschafft sich ihre Energie aus der Verarbeitung des Zuckers.

In bezug auf Hefenernte, Stickstoffumsatz und Stickstoffgehalt ist es gleich, ob der Kahmhefe Zucker oder organische Säure in Form von Apfelsäure als Kohlenstoffquelle geboten wird.

Große Oberfläche leistet stärkerer Veratmung des Zuckers Vorschub, somit fällt der für den Zellaufbau verbleibende Zuckeranteil geringer aus. Die Hefenernte vermindert sich. Kleine Oberfläche bedingt geringere Zuckerveratmung und größere Kahmhefenernte.

Schluß: Zusammenfassung

Zum Schluß möchte ich noch einmal die im Laufe der Arbeit gewonnenen Resultate, wie ich sie am Ende eines jeden Kapitels resumierte, im ganzen zusammenstellen:

Werden einzelne Zellen einer gärenden sporenbildenden Hefe in mineralische Nährlösung mit Zucker als Kohlenstoffquelle ausgesät, so tritt, wenn nach den bisherigen Arbeitsmethoden gearbeitet wird,

a) bei Verwendung einer ausgereiften ruhenden Kultur und

b) bei Verwendung sterilen Wassers zur Verdünnung

keine Vermehrung ein.

Bei Aussaat von 50 Zellen (in 10 ccm Nährlösung) und mehr erfolgt Vermehrung. Die Vermehrung erfolgt auf Kosten der abgestorbenen Zellen. Der aus den toten Zellen austretende organische Stickstoff verhilft den überlebenden Zellen zum Wachstum und zur Vermehrung.

Je mehr Zellen ausgesät wurden, um so intensiver erfolgt die Vermehrung.

In allen Fällen, in denen Vermehrung eintrat, beobachtete ich sichtbare Gärung.

Der Zusatz einer stickstofffreien Kohlenstoffverbindung (verwendet wurde gebrannter Zucker nach Lindet) vermag einzeln ausgesäten Hefenzellen in mineralischer Nährlösung nicht zur Entwicklung zu verhelfen.

Wohl aber steigert Zusatz von gebranntem Zucker dieselbe bei reichlicher Hefeaussaat von über 50 Zellen pro 10 ccm Nährlösung und zwar steigt mit der Aussaatmenge die Hefenernte im Gegensatz zu Kulturen in organischen Lösungen, bei welchen die Hefenernten nicht durch die Aussaatmengen beeinflußt werden.

Setzt man jedoch geringe Spuren organischer Stickstoffverbindungen z. B. Pepton und Harnstoff von einem Minimum von 0,00005% ab der mineralischen Nährlösung zu, so hilft dies einzeln ausgesäten Zellen über die Schwelle hinweg und ermöglicht Vermehrung. Bei steigender Gabe von Pepton und Harnstoff wächst auch die Hefenernte.

Die wachstumfördernde Wirkung von Tannin und Huminsubstanzen ist auf ihren Gehalt an organischem Stickstoff zurückzuführen.

Gleichzeitig ausgesäte Schimmelpilze und Kahmhefen ermöglichen der Hefe infolge der von ihnen ausgeschiedenen organischen Stickstoffsubstanzen Wachstum und Vermehrung.

Hefen und verwandte Organismen verhalten sich einzeln in mineralische Zuckerlösung ausgesät verschieden:

a) Gärende sporenbildende Hefen entwickeln sich nicht.
b) Nicht sporenbildende (Torula-)Hefen zeigen, einzeln ausgesät in mineralische Nährlösung, schwache Vermehrung. Man erkennt aus dem verzögerten Wachstum, daß sie verwandtschaftlich mehr zu den gärenden sporenbildenden Hefen neigen.
c) Kahmhefen einzeln ausgesät entwickeln sich gut und zeigen nach dem flotten Wachstum beurteilt mehr Verwandtschaft mit den Schimmelpilzen als mit den gärenden Hefen.
d) Bei einzeln ausgesäten Schimmelpilzsporen erfolgt die Entwicklung leicht und schnell.

Für Kahmhefen und Schimmelpilze ist es gleichgültig, ob ihnen die anorganischen Stickstoffverbindungen in Form von $(NH_4)_2SO_4$ oder KNO_3 geboten wird.

Vorstehende unter a—d ermittelten ausgesprochenen Unterschiede bei Hefen und den ihnen nächstverwandten Organismen stelle ich als Merkmale zur Feststellung der Verwandtschaft fest. Voraussetzung ist, daß nach den bisherigen Kulturmethoden gearbeitet wird.

Nach einer neuen, von mir vorgeschlagenen Kulturmethode kommen einzeln ausgesäte Hefezellen, die aus organischer Nährlösung stammen, ohne Angewöhnung in mineralischer Nährlösung zur Entwicklung. Bedingung ist: 1. Verwendung sprossender in voller Lebenstätigkeit befindlicher Hefe, 2. Ausschaltung osmotischer Störungen, die durch Verwendung des zur Verdünnung bisher üblichen sterilen Wassers entstanden. Statt dessen Verdünnung mit zuckerhaltiger Mineralsalzlösung.

Die Erklärung zu diesen Vorgängen insbesondere der Vergleich des Verdauungsmechanismus der Hefe mit dem modernen Verbrennungsmotor der Technik befindet sich in Kapitel 4 S. 35—42.

Bei Hefen und den ihnen nächst verwandten Organismen ist unter gleichen Versuchsbedingungen, gleichen Nährlösungen bei schwächster Aussaat das Verhältnis vom Stickstoffansatz zum Stickstoffumsatz verschieden. Es beträgt:

1 : 2,8 bei sporenbildenden gärenden Hefen,
1 : 3,7 bei nichtsporenbildenden (Torula-)Hefen,
1 : 1,3 bei Kahmhefen,
1 : 1,3 bei Schimmelpilzen.

Die Kahmhefen eignen sich infolge ihrer Fähigkeit, bei geringstem Zuckerverbrauch anorganischen Stickstoff unter günstigster Ausbeute in organischen Stickstoff umzuwandeln, und infolge ihres schnellen Wachstums zur Gewinnung eines neuen eiweißhaltigen Futtermittels.

Die Erhöhung der Stickstoffgabe steigert bei Kahm auch die absolute Menge der Ernte. Indessen für den prozentualen Gehalt an Stickstoff der Kahmhefe ist es ohne Bedeutung, ob die Stickstoffgabe groß oder klein ist.

Nach beendigtem Wachstum treibt die Kahmhefe mit den überschüssig gebotenen Stickstoffverbindungen der Nährlösung Luxuskonsumtion.

Die Zuckerkonzentration ist von einem Minimum von 5% an, welches zum Aufbau der Kahmhefezellen erforderlich ist, ohne Bedeutung für die Vermehrung, den Stickstoffumsatz und den Stickstoffansatz. Eine Vergrößerung der Kahmhefenernte tritt dann nicht mehr ein, wie Pringsheim auch für Hefen feststellte. Der überschüssige Zucker verschwindet auf dem Wege der Veratmung.

Der Energiegewinn der Kahmhefe erfolgt aus der Verarbeitung des Zuckers und anderer Kohlenstoffquellen.

Es besteht kein Unterschied in der Vermehrung, dem Stickstoffumsatz und dem Stickstoffgehalt der Kahmhefe, gleich, ob man ihr Zucker oder organische Säure in Form von Apfelsäure als Kohlenstoff- bezw. Energiequelle bietet.

In Kahmhefekulturen mit großer Oberfläche wird stärkerer Veratmung des Zuckers Vorschub geleistet. Der für den Zellaufbau verbleibende Zuckeranteil fällt somit geringer aus. Die Folge ist geringere Ernte. Bei Kulturen mit kleinerer Oberfläche ist die Zuckerveratmung geringer und die Kahmhefenernte größer.

Literatur

1. Pasteur. Nouveaux faits concernant l'histoire de la fermentation alcoolique. Comptes rendus, S. 1011, 1858.
2. Duclaux. Observations aux fermentations alcooliques. Comptes rendus, S. 450, 1864.
3. Mayer. Untersuchungen über die alkoholische Gärung des Hefepilzes. Annalen für Physik und Chemie von Poggendorf, S. 293, 1871.
4. Nägeli. Über die Fettbildung bei niederen Pilzen. Sitzungsberichte der Königl. Bayerischen Akademie der Wissenschaften, München, S. 935, 1879.
5. Laurent. Über die Physiologie der Hefen. Ref. Kochs Jahresbericht, S. 55, 1890.
6. Pfeffer. Pflanzenphysiologie I, S. 440, 1897.
7. Wildiers. Nouvelle substance indispensable au développement de la levure. La cellule, Tome XVIII, S. 313, 1901.
8. Fernbach. Die Entwicklung der Hefe in einem mineralischen Medium. Annales de la Brasserie et de la Distillerie, S. 510, 1901.
9. Krieger. Bericht über die Mitteilungen von Wildiers Betrachtungen. Amerikanischer Bierbrauer, S. 712, 1901.
10. Windisch. Kritische Bemerkungen zu der Abhandlung von Wildiers „Bios", eine neue, zur Entwicklung der Hefe unumgänglich notwendige Substanz. Wochenschrift für Brauerei, Bd. XIX, S. 2, 1902.
11. Amand. Das Bios spielt nicht die Rolle eines Gegengiftes. La Cellule, Bd. XX, S. 225, 1902.
12. Henry. Über das Bios. Annales de la Brasserie et de la Distillerie, S. 129, 1902.
13. Windisch. Über „Das Bios von Wildiers spielt nicht die Rolle eines Gegengiftes". Wochenschrift für Brauerei, Bd. XIX, S. 527, 1902.
14. Kossowicz. Untersuchungen über das Verhalten der Hefen in mineralischen Nährlösungen. Ref. Kochs Jahresbericht, Bd. XIV, S. 211, 1903.
15. Amand. Das Verschwinden des Bios von Wildiers in den Hefekulturen. La Cellule, Bd. XXI, S. 329, 1904.
16. Lindner. Die Assimilierbarkeit der Selbsverdauungsprodukte der Bierhefe durch verschiedene Heferassen und Pilze. Wochenschrift für Brauerei, Bd. XXII, S. 528, 1905.
17. Chrzaszcz. Zur Kenntnis des Hefenwachstums in mineralischer Nährlösung. Zentralblatt für Bakteriologie, Abt. II, Bd. XIII, S. 144, 1904.
18. Pringsheim. Über die sogenannte Biosfrage und die Gewöhnung der Hefe an gezuckerte Nährsalzlösungen. Zentralblatt für Bakteriologie, Bd. XVI, II. Abt.. S. 111, 1906.
19. Ide. Über Wildiers Bios. Zentralblatt für Bakteriologie, II. Abt., Bd. XVIII, S. 193, 1907.
20. Lindner. Kochs Jahresbericht, 18. Jahrgang, S. 52, 1907 (Ref. Endomyces fibuliger)
21. Pringsheim. Über die Stickstoffernährung der Hefe. Biochemische Zeitschrift, III. Bd., S. 121, 1907.
22. Rubner. Die Ernährungsphysiologie der Hefenzelle bei alkoholischer Gärung. Archiv für Physiologie, Supplement-Band 1912.
23. Moufang. Über die katalytische Wirkung toter Hefenzellen auf die Gärung. Ref. Kochs Jahresbericht, Bd. XXX, S. 113, 1913.

24. Pringsheim. Zur Theorie der alkoholischen Gärung. Biologisches Zentralblatt, Bd. XXXIII, Nr. 8, 1913.
25. Euler u. Lindner. Chemie der Hefe. Akademische Verlagsgesellschaft Leipzig 1915.
26. Bokorny. Die Stickstoffquellen der Hefe. Chemikerzeitung, Bd. 40, S. 366, 1916.
27. Lindet. Le déchet de la fermentation alcoolique. Comptes rendus de l'academie, 164, S. 58—61, 1917.
28. Bokorny. Notizen über Hefevermehrung. Tageszeitung für Brauerei, Nr. 33, S. 269, 1917.

Die Fettbildung in Hefen auf festen Nährböden

von

P. Lindner und **T. Unger**

Mitteilungen aus dem biologischen Laboratorium des Instituts für Gärungsgewerbe

Nachdem im Jahre 1911 in einem vorläufigen Bericht (Jahrbuch der Versuchs- und Lehranstalt für Brauerei, Berlin, Band 14, Seite 555) dargetan ist, daß bei Assimilationsversuchen mit Alkohol in mineralischer Nährlösung die Hefen sowohl Zellhaut, Zellsubstanz als auch Fettkügelchen aus dem Alkohol aufzubauen imstande sind, haben wir im Sommer 1917 die direkte Einwirkung von Alkoholdämpfen auf verschiedene Brauerei- und Brennereihefen untersucht und dabei eine überraschend schnelle Fettbildung beobachtet. Die Einwirkung vollzog sich ohne Mithilfe einer Nährlösung, indem die Betriebshefen in dünner Schicht auf Glasplatten aufgestrichen den Dämpfen ausgesetzt wurden. Dies auffallende Ergebnis machte es wahrscheinlich, daß auch die auf den bekannten Impfstrich- oder Oberflächenkulturen bezw. Riesenkolonien von Hefen längst beobachtete üppige Fettbildung der Zellen an der Luftgrenze dem aus der Tiefe der Kultur emporsteigenden Alkohol seine hauptsächlichste Entstehung verdankt. Es lag nun nahe, durch mikroskopische Untersuchung der Oberflächenschichten in den zahlreichen Würze-Agarkulturen unserer Sammlung, die in einem Kühlschrank mit 6—8 Grad C. aufbewahrt wird, die verschiedenen Gruppen von Hefen auf ihre mehr oder weniger ausgeprägte Fähigkeit zur Fettbildung vergleichend zu untersuchen. Da die einzelnen Kulturen ein ungleiches Alter seit der letzten Überimpfung besaßen, mußte auch ein Vermerk über das Alter gemacht werden. Die nachstehende Tabelle gibt das Alter in Monaten an und den Fettgehalt in Abstufungen, die durch

Untergärige Brauereihefen.

××× starke Fettbildung, ×× stärkere Körnelung, × schwache Körnelung, — fettlos, * mit Sporen.

Sammlungs-Nr.	Name	Alter in Monaten	Fettgehalt	Alkohol-Assimilation [1])
2	Viktoriabrauerei	9	×××	?
6	Saaz	10	××	?
19	Frohberg	3	××	1
20	Jörgensen	11	×××	1
112	Jeschek	11	×××	1
175	Carlsberg 1	9	×××	—
220	Bötzow	11	×××	1
375	Lützschena 3	9	×	?
389	Gräfenthal	9	×	1—2
418	Leistbräu	9	××	1
419	Spatenbräu	12	×××	1—2
502	Böhmisch Brauhaus	3	××	1
547	Eisenach	13	×××	1—2
616	Pietsch-Weißenfels	9	×××	?
630	Schönfeld z. a. 19	14	×××	1
632	„ z. a. 32	11	×××	1
649	Schöneberg 1900	9	×××	1
650	Rheinische Aktien-Br. Mainz	6	×××	1
676	Sternagel, Breslau	9	××	1
722	Lehmann, Schöneberg	9	×	1—2
740	„ „	9	×××	1—2
747	Dortmund	9	×	1
751	Capbierhefe	11	×	?
775	Schifferer, Kiel	9	×××	1
776	Lehmann, Schöneberg	10	×××	?
791	„S“ Schönfeld	13	×××	1
796	S. thermantitonum	6	×	1
797	Rasse „K“ Schönfeld	11	××	1
805	„ „H“ „	10	××	2
837	Dortmunder Union	9	××	1—2
925	S. bruxellensis aus Lambic	16	×××	1

[1]) Aus Lindner und Cziser, Wochenschr. f. Brauerei 1912, Nr. 1 und aus neueren Versuchen, die eben erst abgeschlossen. Um die neueren Zahlen hervorzuheben, sind sie in Fettdruck wiedergegeben.

Obergärige Brauereihefen

Sammlungs-Nr.	Name	Alter in Monaten	Fettgehalt	Alkohol-Assimilation
30	Jörgensen	9	××	2
145	Koch	16	×××	1
150	Zeitz	28	×	?
159	Konitz	10	××	?
163	Frohberg	14	×××	1
169	Krause, Königsberg	9	×	1
182	Baartz, Holland	9	××	2
183	Hansen, cerevisiae I	43	×××	1
283	Bau, Holland	9	×	1
301	Grätz	7	×××	1—2
330	Linden, Broyhanhefe	7	×	2
376	Jena	9	×××	1—2
405	Liegnitz	13	×××	1—2
415	Döhlen	21	×××	1—2
457	Döhlen, Potschappel	9	××	—
539	Porter	10	×	1
540	"	13	××	1
678	Broyhan, Weißbier	9	×	?
686	Danziger Jopenbier	9	××	1
752	Weißbierhefe Rommel	10	×××	1—2
764	England	9	××	2
795	Rasse „a" niedrig vergärend	9	××	?
806	Rasse „b" hoch vergärend	13	××	1
835	Rasse „R" Dessau	11	×	1—2
1103	Wernesgrün, Schönfeld	4	××	?

Wilde Hefen

Sammlungs-Nr.	Name	Alter in Monaten	Fettgehalt	Alkohol-Assimilation
40	Königshain	13	××	1—2
44	Stockholm	39	×××	1—2
45	Solingen	13	××	2
51	Sacch. cratericus	9	×	1—2
52	Japan	15	××	2—3
53	Rostock	14	××	1
91	Gärkeller, Rostock	25	×××	1
115	S. Pastorianus I	17	××	?
116	" " II	9	×	1
117	" " III	27	×××	1
118	Ellipsoideus I	9	××	2
119	" II	7	×	1—2
122	Teufelsbrück	8	×××	1
235	Frankfurter Bier	8	×	1

Sammlungs-Nr.	Name	Alter in Monaten	Fettgehalt	Alkohol-Assimilation
236	Frankfurter Bier	10	××	1—2
238	„ „	13	××	1—2
243	Bundesbräu	13	××	1
292	V. L. B.	9	—	1—2
368	V. L. B. Lagerfaß	9	××	1—2
604	Hannover	10	× *	3
698	von Himbeeren	9	—	?
702	von Johannisbeeren	13	—	3
784	S. cratericus	4	××	1
808	„ turbidans Unterg.	13	××	1
809	„ „ Oberg.	10	××	1
924	Mycoderma lambic	39	—	2
	Kahmhefen			
66	Gensen	13	×	1—2
67	Franke	14	—	3
126	Willia belgica	2	—	3
127	Gallasch	13	—	1—2
177	Aus gärendem Eibischsaft	16	—	3
178	„ „ „	13	×	1—2
197	Fruchtätherhefe	11	—	2
269	Ficus	16	—	3
360	Aus amerikanischem Bier	27	×	3
398	Endoblastoderma amycoides 3	32	—	2—3
402	Endoblastoderma pulverulentum	3	×	3
434	von Grünmalz	3	×	3
480	„ Mazun	9	—	3
583	„ Bierflasche	3	—	3
688	„ Gurke	16	—	?
693	Rasse V	30	×	3
721	Stade	13	×	2—3
761	Rasse A	13	—	3
762	„ B	8	—	3
783	von Preßhefe	33	—	3
790	Stockholm	13	×	2
923	Mycoderma vanlaeriana aus Lambic	9	—	3
950	Aus schwedischer Sulfitlauge	18	—	3
956	Mycoderma arborescens	13	×	2
1040	von Bierfilz	33	—	2
	Torulahefen			
380	Braunschweig	14	—	1
689	von Eichenschleimfluß	27	×××	1

Sammlungs-Nr.	Name	Alter in Monaten	Fettgehalt	Alkohol-Assimilation
750	Torula colliculosa	14	××	1
793	aus Weißbier	17	—	
1026	„ Kumys	25	—	3
1032a	„ Blüten von Salix polaris	13	×	2
1042	„ Bierfilz	8	×××	2
1043	„ Blumen (Wildbad)	10	××	?
621	Torula pulcherrima	8	××	1
1104	Torula von Kirschen (Königshain)	8	×××	2
	Rote Hefen			
72	aus Carlsbergbier	13	—	1—2
317	nicht vergärend	9	—	1
798	Endoblastoderma	10	—	2—3
851	Saccharomyces glutinis	11	—	2
1076	aus Birkensaft	11	×	?
	Brennereihefen			
128	Rasse II	15	××	?
129	Gronowo	15	×××	1—2
136	Massow	12	××	1—2
755	Rasse XII	9	××	?
800	„Original Pasteur“	9	—	1
802	Krupa	36	×××	1—2
	Preßhefen			
79	Wünschelburg	9	×××	1
85	Sinner II	13	×××	2—3
139	Rasse III Bendix	39	×××	?
430	Schwarzwälder Lufthefe	13	××	1
487	Dornkaat Rasse V	36	××	1
574	Rasse VI	24	×××	1—2
683	Stettin	17	××	2
637	Rasse VIII	9	—	1
707	Dänemark	28	××	1
724	Lüneburg	33	××	1
725	„	10	××	1—2
726	Rixdorf	9	×	1—2
	Weinhefen			
454	Winningen	8	×	3
455	Steinberg	13	××	?
463	Bari	15	××	?
466	Assmannshausen	13	×××	1
521	Bordeaux	13	××	1

Sammlungs-Nr.	Name	Alter in Monaten	Fettgehalt	Alkohol-Assimilation
523	Riesling	16	×××	1
527	Champagne	18	×××	1
531	Chambertin	24	××	1
799	Charente	13	××	1
807	Champagne	12	×	1
984	Ruster	15	××	1
1077	Tokayer	9	××	1—2
994	"	30	××	1—2
	Spezialhefen und besonders charakterisierte Hefen			
481	aus armenischem Mazun	15	××	1—2
495	" " "	30	××	2
571	Kwaß	24	××	2
601	aus Danziger Jopenbier	17	×× *	1—2
603	" " "	8	××	2
847	Cidergärung	33	×× *	3
76	Saccharomyces Bailii aus Jopenbier . . .	33	×	?
99	" apiculatus	3	—	?
125	" farinosus (Danzig)	9	×	3
125a	" farinosus Saito (Japan) . .	9	—	3
199	" cartilaginosus aus Kefir . .	17	××	?
272	" membranaefaciens	17	—	3
354	" Delbrücki	42	×	?
409	" Marxianus	9	—	2—3
429	" Logos	7	×××	1
431	" exiguus	8	—	1
852	" capsularis	2	—	1
919	" Coreanus forma major . .	33	×××	2
920	" Coreanus forma minor . .	28	×	2
989	" turbidans	13	×××	1—2
990	" validus	9	×	1—2
991	" Stamm 93	9	××	1—2
1052	" aus Kefir	3	—	?
173	Schizosacch. Pombe	3	—	1
577	" mellacei	9	×	3
408	" octosporus	9	× *	?
737	Zygosacch. von Kakao	9	××	?
845	" Barkeri	13	—	?
850	" Prior	11	×	?
921	" fusoriens	9	×	?
394	Milchzuckerhefe Kiel	9	×	1
954	Milchhefe a Heintz	17	×××	1

Sammlungs-Nr.	Name		Alter in Monaten	Fettgehalt	Alkohol-Assimilation
955	Milchhefe b Heintz		15	×	?
975	Yoghurthefe „		9	—	2
648	Mycelhefe		13	—	?
1088	„ Eisschrank		6	—	1
1089	„ Lärchenholz		6	×	?
765	H_2S-Hefe		9	×	1
949	Hefe aus schwedischer Sulfitlauge		9	×	2
781	Pinophtorus enervans (van Hest)		15	—	1—2
788	Amylohefe		9	—	3
843	Schwannyomyces occident		17	×	1
829	Hefen aus der Bucht von Neapel (Knischewski)	Padina povina	8	×	2
930		Halyseris	8	×××	2
831		Fischdarm	8	×××	2
832		Alge	8	××	2
853		Hardanger	15	×××	1—2
849	Wills Torulahefen	I	14	—	1—2
		II	8	—	3
		III	13	×	1
		IV	8	×	3
		VII	17	—	1—2
		X	22	—	1
		XV	17	—	1
854	Lufthefe		17	×××	2
855	Membranhefe		3	××	1—2
957	aus Aconitum Lycoctocum		32	×	1
971	Blumenhefe von Wochainer See		8	×	2
972	Baumflußhefe		14	× *	1—2
973	„		9	—	2
976	Hefe aus Thale		13	— *	2
983	Guillermondia fulvescens		18	××	?
993	Roses Hefe „E“		8	××	?
992	„ „ „F“		15	××	?
985	Javahefe I		8	××	?
986	„ II		8	×	1—2
987	„ Weißbier		8	×	3
1045	Teehefe, Frosch		8	×	1
1046	„ , Lindau		8	×	1
1047	Chichahefe		17	×	1
1049	Hefe aus Bierfilz		17	—	1—2
1054	Bassiahefe, Indien		8	×	2
1055	Hefe aus Zuckerrohr		8	××	1—2

Sammlungs-Nr.	Name	Alter in Monaten	Fettgehalt	Alkohol-Assimilation
1064	Hefe aus Malzbrot, Kairo	11	—	3
1065	Schwabenhefe	17	×	2
1062	Anamhefe	9	×	1—2
1066	Hefe aus Görlitzer Brauerei a	8	—	?
1067	" " " " b	13	—	1—2
1068	" " " " c	9	—	2
1069	" " " " d	11	××	1
1070	Busahefe a	16	×××	1
1071	" b	14	×××	1—2
1075	Linariahefe	8	×	?
1077	Weißbierhefe, Naumburg	8	××	1
1078	" " (Spitzhefe)	8	—	
1079	Tropfwasserhefe	8	×××	2
1090	Schimmelhefe aus Wasseranalyse	23	—	3
1091	Hefe aus kondensierter Milch (Heymann)	17	—	3
1092	Tebbenhoff III	4	×	1
1093	Hefe aus gärendem Hefe-Extrakt	9	×	?
273	Saccharomyces Ludwigii	6	× *	2
1034	Hefe aus verschleimter Milch „Tätte"	9	××	1
685	Hefe von Korinten	9	××	2

Kreuze oder ein Minuszeichen ausgedrückt werden. Als Gesamtergebnis ist festzustellen, daß die untergärigen Brauereihefen am kräftigsten Fett gebildet haben. Bei obergärigen Brauereihefen, bei Brennerei- und Preßhefen und Weinhefen überwiegt in der Mehrzahl der Kulturen starkkörniger Inhalt statt der großen Fetttropfen. Bei den wilden Hefen treten schon schwach gekörnte Zellen häufiger auf und bei den Kahmhefen und roten Hefen sind oft nur winzige bezw. keine Fetttröpfchen zu sehen. Bei den Torulahefen dagegen finden wir die beiden Gegensätze ziemlich gleichmäßig vertreten. In der Gruppe der besonders charakterisierten Hefen zeigen sich alle möglichen Übergänge.

Wenn man auf Grund mehrfacher Beobachtung den Satz, daß eine fette Hefe wenig zum Keimen geneigt ist, gelten lassen will, so kann man verstehen, weshalb gerade die untergärigen Brauereihefen in Wildierscher Lösung eine frühzeitige Unterbrechung im Wachstum erfahren, wohingegen die Kahmhefen oder roten Hefen oder wilden Hefen noch mit dem Sprossen fortfahren. Wir haben dann aber auch eine Erklärung für die Erfahrungstatsache, daß bei Überimpfungen einer älteren Kultur

auf frischen Nährboden der Erfolg sicherer ist, wenn wir statt aus der Mitte der Kultur mit ihren alten verfetteten Zellen die Randpartien benutzen, in denen noch die sog. Eiweißgeneration vorherrschend ist.

Es wäre ja zweckmäßig gewesen, wenn wir unsere Kulturensammlung gleichzeitig auf frischen Nährboden übergeimpft und dann schrittweise das Entstehen der Fettkugeln bezw. Körnelungen verfolgt hätten. Es war dies aber in der Kriegszeit nicht möglich.

Aus dem Umstand, daß selbst in 40 Monate alten Kulturen die Zellen häufig noch voller Fett saßen, darf man wohl schließen, daß dieses wohl kaum als Reservestoff mehr Bedeutung hat. Es dürfte dies nur gelten für die noch feinkörnigen Ausscheidungen im Plasma, die man in jungen Sproßzellen in frischer Nährlösung bei reichlichem Luftzutritt regelmäßig beobachtet. Es gilt auch für die Fettbildung, was Wehmer bezüglich der Säurebildung oder Boas bez. der Ammoniakabscheidung durch Schimmelpilze festgestellt hat, daß der Organismus seine Lebensprozesse durchaus nicht immer so regelt, daß Schaden hierbei für sein Gedeihen ausgeschlossen bleibt. So gehen z. B. auf Harnstoffnährböden viele Pilze in kurzer Zeit durch zu viel entbundenes Ammoniak zugrunde, weil sie das Harnstoff spaltende Enzym zu ausgiebig entwickeln, ähnlich wie gewisse Pilze durch Oxalsäure oder die Milchsäurebakterien der Milch durch Milchsäure schließlich zum Absterben gebracht werden.

Es erschien uns zweckmäßig, in den nachfolgenden Tabellen auch die Alkohol-Assimilationsbefunde aus der Arbeit von Lindner und Cziser 1912 zum Vergleich mit den Befunden über die Fettbildung anzufügen. Dabei stoßen wir auf bemerkenswerte Gegensätze. Damals war als Gesamtergebnis festgestellt worden, daß gerade die Kulturhefen am wenigsten befähigt waren, den Alkohol zu assimilieren, und jetzt haben wir festgestellt, daß gerade sie ihn am meisten assimilieren und zur Fettbildung benutzen. Welche Erklärung müssen wir hierfür suchen? Es ist jedenfalls in den mineralischen Nährlösungen, denen nach der Sterilisation der Alkohol in konzentrierter Form hinzugefügt wurde, ein so kräftiger Wirbel beim Vermischen entstanden, daß sämtliche Luft, die etwa gelöst war, ausgetrieben worden sein dürfte. Für alle Hefen aber, welche sich nicht in Häuten an der Luft entwickeln, sondern sich am Boden festsetzen, ist der Mangel an Sauerstoff offenbar die Ursache gewesen, daß es da nicht zu einer bemerkenswerten Assimilation bezw. Fettbildung gekommen ist. Obwohl nun zwar gelegentlich bei den früheren Versuchen mit Alkoholdämpfen die Bildung von Fetttröpfchen bemerkt wurde, ist damals doch noch nicht dieser Erscheinung eine genügende

Beachtung geschenkt, auch sind die Kulturen nicht lange genug beobachtet worden. Es wird Aufgabe späterer Versuche sein, diese Lücke noch auszufüllen, namentlich auch bei den Kahmhefen, die bei den früheren Assimilationsversuchen mit Alkohol kräftige Ernten gaben, auf etwaige Fettbildung zu achten. In den Kulturen auf festen Nährböden lassen sie ja zumeist Fettbildung vermissen. Hierbei wird nun allerdings der Umstand zu berücksichtigen sein, daß die meisten Kahmhefen die Maltose und auch vielleicht die Dextrose des Würzeagars gar nicht vergären und somit keinen Alkohol zur Fettbildung zur Verfügung gestellt bekommen. Van Laer berichtet 1901 (J. of the federated Inst. of Brewing, Bd. 7), daß Mycodermazellen, in denen weder Invertase noch Maltase nachweisbar waren, Saccharose und Maltose direkt zu Wasser und Kohlensäure oxydierten. Nach Meißner oxydieren sie die Zucker, bilden aber aus ihnen Zellsubstanz und daneben auch noch Säure. Allan P. Swan hat (Centralbl. f. Bakteriologie 2. Abt., II. Bd., Nr. 1, 1896) eine rote Hefe untersucht, die auf Würzegelatine in 10 bis 14 Tagen bei 5—10° C massenhafte Fetttropfen bildete, die er aber fälschlicherweise als Sporen angesehen hat. (Die Bilder, die er von den vermeintlichen Sporen führenden Zellen gebracht hat, lassen den Irrtum ohne weiteres erkennen.) Da diese Hefe keinen Alkohol bildet, muß die Fettbildung aus dem Zucker erfolgen ebenso wie bei dem Endomyces vernalis. Swan macht die interessante Angabe, daß im Dunklen die Sporenbildung bei 12° C frühestens in 20 Tagen einsetzt, während bei Licht dies schon nach 7 Tagen der Fall ist. Luft und Licht gaben die schnellsten Resultate. Wurde das Kulturglas statt mit Watte mit einem Gummistopfen verschlossen, dann verzögerte sich die Sporenbildung (oder richtiger die Fettbildung) erheblich.

Beiläufig sei bemerkt, daß in den nachstehenden Tabellen ein Überblick über den gegenwärtigen Bestand unserer Sammlung an Hefereinkulturen gegeben wird. Leider sind eine Anzahl Kulturen, die wir noch in den früheren Untersuchungen über die Assimilation gegenüber den Zuckerarten und den Eiweißabbauprodukten benützt haben, eingegangen, so daß für den Bezug von Kulturen jene Tabellen nicht mehr maßgebend sind. Andere Stämme, die neu hinzugekommen, konnten andererseits noch nicht auf Alkoholassimilation untersucht werden. Der Zahl nach sind rund 250 Hefenstämme auf Fettbildung und auf Assimilation des Alkohols geprüft.

Nachträglich wurde noch ein Vergleich angestellt mit den Ergebnissen einer Arbeit, die Stockhausen in unserem Laboratorium vor Jahren über das Verhalten der Hefen in Ammonsulfat-Traubenzuckerlösungen

angestellt hat. Es war nämlich denkbar, daß die Alkoholassimilation bei Ammonsulfat als N-Quelle ausbleibt, weil die betreffende Hefe das Ammonsulfat nicht verarbeiten kann. Wenn nun z. B. die Weinhefe Bari bezüglich der Alkoholassimilation mit ? gekennzeichnet ist, in der Ammonsulfatzuckerlösung aber mit 3 gewachsen ist, dann liegt die geringe Alkoholassimilation nicht an dem Ammonsulfat, sondern an dem Alkohol bezw. an dem Fehlen von genügend Sauerstoff. Die Kahmhefe 269 wuchs in der Zuckerlösung nur mit 1, in der Alkohollösung mit 3. Dies deutet auf leichtere Verarbeitung des Alkohols, als des Zuckers. Der negative Befund bezüglich der Fettbildung deutet an, daß der Alkohol mehr zum Aufbau der Zellwand oder des Plasmas verwendet wurde.

Die leichte Umwandlung von Alkohol in Fett ist aber doch die Regel bei der Mehrzahl der Hefen, wenn für ausreichenden Luftzutritt gesorgt ist.

Im Beiheft zum Bot. Zentralblatt 1. Abt. 1918 sagt Bokorny: „Die Hefe ist kein für die Fettbildung recht günstiger Pilz". Nur bei krankhafter Veränderung könne es zu größerer Fettanhäufung kommen. Man sieht, wie leicht man auf gänzlich abwegige Schlüsse in der Ernährungsphysiologie kommen kann. Gerade das Gegenteil von dem was Bokorny sagt, ist richtig. Die Bierhefe ist für die Fettbildung einer der geeignetsten Pilze. Der Umstand, daß gerade die in größerer Menge zur Verfügung stehende Bierhefe leicht fettreich gemacht werden kann, dürfte noch einmal technisch und volkswirtschaftlich ausgewertet werden. Solche Hefe als Nährhefe würde uns wie die Milch Eiweiß und Fett gleichzeitig liefern.

Zur Verflüchtigung des Biosbegriffs

von

Prof. Dr. **Paul Lindner**

Mit einer Tafel und 4 Textabbildungen

Die Erfahrungen mit dem Fettpilz Endomyces vernalis Ludwig haben mir gezeigt, daß mit zunehmender Verfettung der Zellen dieselben schließlich ihr Wachstum einstellen und es auch in frischer Nährlösung nicht mehr aufnehmen. Auch bei Kulturhefen, die längere Zeit auf Würzegelatine oder Würzeagar gezüchtet waren, habe ich oft genug ein Ausbleiben der Keimung beobachtet, wenn Einzellkulturen zu Übungszwecken hergestellt wurden, bin jedoch zunächst auf die Verfettung der Zellen als Ursache der Erscheinung nicht verfallen. Erst als ich die überaus kräftige Fettbildung bei Kulturhefen in reinen Zuckerlösungen oder in Gegenwart von Alkohol und Luft durch Versuche festgestellt hatte — in der 2. Hälfte des Jahres 1917 — stieg mir sogleich der Gedanke auf, daß auch bei der Biosfrage die Verfettung der Zellen eine Rolle spielen dürfte, und ich wurde darin bestärkt, als ich sowohl bei Kossowicz als auch bei Chrząszcz von verfetteten Zellen, die sich in der Wildierschen Lösung[1]) bei geringer Zellenaussaat entwickelt hatten, las. Ersterer berichtet: „interessant war auch das Vorkommen großer Fettkörner in der Vakuole“ (er hatte mit Saccharomyces ellipsoideus gearbeitet), letzterer: „das Plasma ist in den meisten Zellen (Riesenzellen) sehr stark granuliert, man sieht oft auch große Öltropfen“ (bezieht sich auf die Rasse II, eine Brennereihefe).

In der vorhergehenden Arbeit findet sich die Angabe von Hans Naumann, daß in Laurentscher mineralischer Nährlösung ausgesäte einzelne Zellen von Bierhefe nach 14 Tagen in den Tröpfchenkulturen auf Grund der starken Lichtbrechung als abgestorben angesprochen werden mußten.

In einer vorläufigen Mitteilung „Eine einfache Lösung der Biosfrage“ in Woch. f. Brauerei 49, 1918, habe ich bereits die Verfettung der Aussaatzellen bei reichlich Sauerstoffgegenwart als Grund aus-

[1]) Wasser 200 g, Rohrzucker 20 g, $MgSO_4$ 0,5 g, $CaCl_2$ 0,5 g, NH_4Cl 0,5 g, $(NH_4)_2HPO_4$ 0,5, $CaCO_3$ 0,1 g.

bleibender Vermehrung angesprochen. An dieser Stelle will ich nun auch durch Bilder eine Erläuterung dazu bringen.

Abbildung 1 zeigt uns eine untergärige Bierhefe (502 der Sammlung), die auf Würzeagar vom 8. 11. 17—2. 12. 18 gewachsen und im Kühlschrank bei etwa 8° C gehalten worden war. Der Reichtum an Öltropfen ist auffallend und kann auf etwa 50% der Trockensubstanz eingeschätzt werden. Die Probe war von der Oberfläche der Mitte der Kultur, also von dem ältesten Teil derselben entnommen worden. Vergrößerung 1000fach. Die Fettbildung in solchen Kulturen ist in der Hauptsache auf die aus der Tiefe aufsteigenden Alkoholdämpfe zurückzuführen. Erst an der Oberfläche werden letztere unter dem Einfluß des Luftsauerstoffs von den Zellen assimiliert und zu Fett umgewandelt. Auf das Vorkommen von Fetttröpfchen bei der Assimilation des Alkohols als alleiniger Kohlenstoffquelle ist von mir schon 1911 im Jahrbuch der V. L. B. S. 555 hingewiesen worden. Siehe auch die vorstehende Mitteilung von Lindner und T. Unger.

Abb. 2 stellt bei 1000facher Vergrößerung eine in Wildierscher Lösung in Adhäsionskultur vom 24.—27. 12. 18 aus der mit dem Pfeil bezeichneten Mutterzelle herangewachsene Kolonie der untergärigen Bierhefe U dar. Die Mutterzelle ist leider bei dem Einstellen des Bildes auf der Mattscheibe unmittelbar vor der Aufnahme geplatzt; sie besaß im Unterschied von ihren Nachkommen ein fettig glänzendes Plasma, das nach dem Einströmen der Flüssigkeit aber als solches nicht mehr im Bild in Erscheinung tritt. Die übrigen Zellen zeigen ein granuliertes Plasma. Über den Fettreichtum solcher granulierter Zellen gibt uns in Abb. 4 eine andere Kolonie aus derselben Adhäsionskultur Aufschluß, bei der durch Salzsäuredämpfe und gelindes Erhitzen ein Zusammenfließen benachbarter Öltröpfchen veranlaßt worden war. (Ein Tropfen verdünnter Salzsäure war in die Höhlung des Objektträgers gegeben und dann letzterer über der Sparflamme eines Bunsenbrenners erhitzt worden.) In den Adhäsionskulturen steht für die Fettbildung aus Zucker bezw. aus dem daraus hervorgegangenen Alkohol stets reichlich Sauerstoff zur Verfügung.

Dasselbe gilt auch für Tröpfchenkulturen. Wie stark auch in diesen die Verfettung Platz greifen kann, beweist Abb. 6 und 7 (ebenfalls 1000fach vergrößert), die beide denselben Sproßverband darstellen, nur daß bei Abb. 7 das Zusammenfließen der Öltropfen durch Abheben des Deckgläschen und Eintrocknen, sowie darauf erfolgtes Anhauchen bewirkt worden ist. In der durch den Pfeil angedeuteten Riesenzelle, die wahr-

scheinlich die Mutterzelle war, ist ein sehr kräftiger Öltropfen zustande gekommen.

Aber auch in dickeren Flüssigkeitsschichten kann bei genügend langer Sauerstoffeinwirkung die Verfettung sich bemerklich machen, selbst dann, wenn die Aussat nicht allzuspärlich gegeben war. Abb. 3 und 5 stellen die in Wildierlösung entwickelten Zellen einer Bierhefe dar; die stark verfetteten Zellen der ersteren waren in einer nur 2 cm hohen Schicht angegangen in einem Fläschchen, das nur mit einem Wattepfropf verschlossen war und vom 3.—12. 12. 18 bei etwa 20° C gestanden hatte. In Abb. 5 ist ein öliges Aussehen des Plasmas nicht zu bemerken. In der betreffenden Flasche war die Flüssigkeit bis zum festschließenden Kork angefüllt, die Luft also abgesperrt. Die Mehrzahl

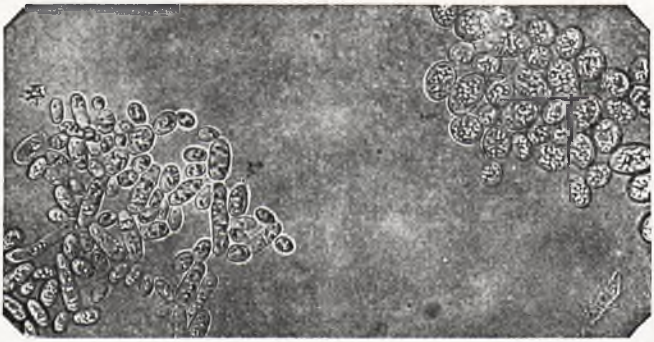


Abb. 8.
Adhäsionskultur von 6tägigem Bottichbier.
1. Kultur-, 2. wilde Hefe (S. Pastorianus-Art). 600fach vergr.

der Zellen ist durchaus gesund und keimungsfähig. Obwohl in dem ersteren Fläschchen mit der geringeren Flüssigkeitsmenge die gleiche Aussaat (eine Platinöse verdünnter Hefe) gegeben war, die Zellen somit dichter lagerten, ist es doch noch zu einer erheblichen Fettbildung gekommen. Ein ähnliches Bild wie Abb. 5 gaben die Sproßverbände derselben Hefe, die in einem Vaselineinschlußpräparat in Wildierlösung gewachsen waren. Selbst in Würze im Vaselineinschlußpräparat gehaltene Zellen derselben Hefe wiesen am 10. 12., also nach 7 Tagen nur selten winzige Granulationen auf. Der Grund dafür ist in dem Mangel an Sauerstoff und in dem Verbleiben der entstandenen Kohlensäure unter dem Deckgläschen, das außen durch Vaseline abgedichtet war, anzunehmen.

In Abb. 8[1]) und 9[2]) bringe ich noch zwei ältere Bilder, die uns gleichzeitig die verschiedenen Fähigkeiten von Kultur-, Kahm- und wilder Hefe zur Fettbildung beweisen sollen.

Abb. 8 zeigt eine untergärige Kulturhefe (1) und eine Pastorianushefe (2), die in einer Adhäsionskultur von einem 6tägigen Bottichbier zu Kolonien herangewachsen sind. Unter dem Einfluß des reichlich zu Gebote stehenden Sauerstoffes haben beide sich noch ziemlich kräftig in der schon weit vergorenen Würze entwickelt. Da der in dieser

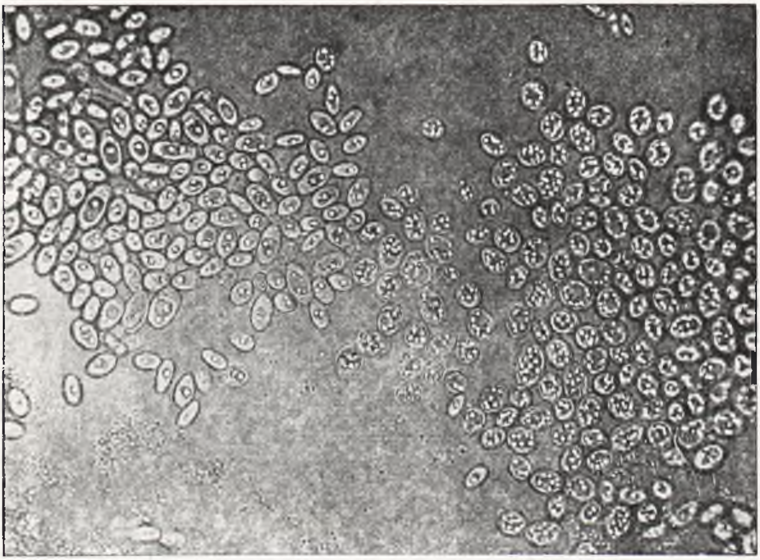


Abb. 9.
Kahmhefe und obergärige Kulturhefe aus einer amerikanischen Preßhefe Adhäsionskultur 600fach.

bereits vorhandene Alkohol aus dem Präparat nicht entweichen konnte, wurde er namentlich von der Kulturhefe absorbiert und zu Fett umgewandelt, das in Form gleichmäßiger Tröpfchen fast allein den Zellinhalt ausmacht. Auf die Trockensubstanz der Zellen bezogen, schätze ich den Fettgehalt auf 40 % ein. Die Pastorianushefe zeigt in starkem Gegensatz zur Kulturhefe nur wenig Fettkörnchen. Abb. 9 zeigt uns den Gegensatz von obergäriger Kulturhefe und einer als Kahmhefe

[1]) Entnommen aus Lindner, Atlas der mikroskopischen Grundlage der Gärungskunde. 2. Aufl. 1910. Berlin, Paul Parey.

[2]) Lindner, Mikroskopische Betriebskontrolle. 4. Aufl., 1905. Paul Parey.

anzusprechenden Art. Für letztere ist bemerkenswert, daß die wenigen kleinen Ölkügelchen meist in der Vakuole liegen; die Kulturhefe (amerikanische Preßhefe) verhält sich ähnlich wie die untergärige in Abb. 8. Die Fettbildung in den Adhäsionskulturen machte sich erst in späteren Tagen bemerklich.

Eine andere Art des Auftretens von Fett nämlich in Form großer Ölkugeln zeigt endlich in Abb. 10 meine Torula pulcherrima[1]). Für diese Art ist die Anwesenheit eines größeren Öltropfens, der stets die Mitte der Zelle einnimmt, kein Hinderungsgrund für das Auskeimen, bei dem lediglich das homogene Plasma in Tätigkeit tritt, während der Öltropfen unbenutzt in der Mutterzelle verbleibt. Diesen Fall hebe ich

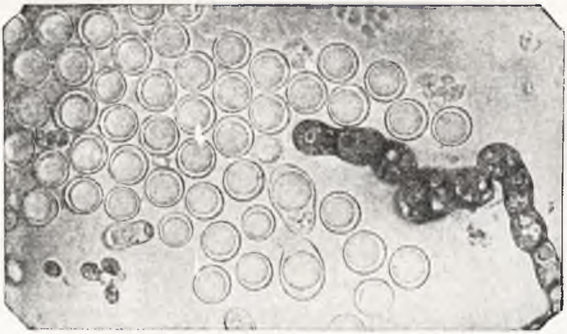


Abb. 10.
Torula pulcherrima (mit großen Fetttropfen) und Fadenstück von Dematium pullulans. 600fach.

hervor, um zu betonen, daß nicht die Fettmenge als solche, sondern wohl mehr die Art ihrer Verteilung im Plasma maßgebend ist für das Ausbleiben der Keimung neben dem Einfluß des Sauerstoffs.

Auf meine Veranlassung hat Frl. Toni Unger von der stark verfetteten Bierhefe 502 (Abb. 1) Aussaaten in Wildiersche Lösung und Würze gemacht und zwar in Tröpfchenkulturen und Vaselineinschlußpräparaten. In der Tröpfchenkultur, also bei reichlichem Luftzutritt, war in beiden Lösungen nach 48 Stunden nur ganz vereinzeltes Aussprossen zu bemerken, in den Vaselineinschlußpräparaten jedoch ein allgemeineres und kräftigeres, besonders in Würze. Von 17 Tröpfchen der Wildierlösung mit etwa je 35 Zellen waren 10 Tröpfchen, von den Würzetröpfchen waren 15 mit etwa je 50 Zellen gänzlich unverändert

[1]) Siehe Note 1 S. 82.

geblieben. Man ersieht aus diesen Zahlen, wie die Verfettung in Verbindung mit viel Luft die Keimung hindert. Ein gleichzeitiger Versuch, mit der bekannten Original-Frohberghefe (Nr. 19) war mit geringerer Aussaat angesetzt, zumal die Kultur erst 4 Monate alt war. Befund nach 24 Stunden: in der Wildierlösung noch kein Wachstum; in Würzetröpfchen jedoch schon kräftige Sprossung mit etwa 3facher Vermehrung; im Vaselineinschlußpräparat in Würze etwa 5fache Vermehrung; dazwischen jedoch die stark fettigen Zellen noch unverändert.

Nach 48 Stunden: in den Wildiertröpfchen die meisten Zellen noch ungesproßt, der Rest bildete Sproßbäume bis zu 7; im Wildiereinschlußpräparat solche bis zu 10 Zellen. In den Würzetröpfchen zeigten die jungen Sproßzellen bereits Granulation, im Würzeeinschlußpräparat nur wenig Granula. Zellen hier auffallend lang und spitz, an Dematium pullulans erinnernd.

Nach 72 Stunden: Im Wildiertröpfchen kleine Sproßbäume mit schon kräftig granulierten Zellen, im Gegensatz zu den schwach granulierten Sprossungen des Wildiereinschlußpräparates. Im Würzetröpfchen starke Granulation, im Würzeeinschlußpräparat wenig Veränderung.

Das Auftreten der Granula erweist sich also als ein deutlicher Hinweis auf das Vorhandensein von genügend Sauerstoff. Ob die Granula nun unmittelbar aus Zucker oder unmittelbar nach dessen Aufspaltung aus dem Alkohol entstehen, muß dahingestellt bleiben. Wir besitzen aber bereits Andeutungen, daß die Hefen bei gleichzeitiger Anwesenheit von Maltose und Alkohol beide gleichzeitig assimilieren (Lindner und Cziser, Jahrbuch der V. L. B. 1911, S. 554) können. Die damals aufgenommenen noch nicht veröffentlichten Bilder von den Kulturen des S. farinosus in Minerallösung + Maltose bez. Maltose + Alkohol lassen unzweifelhaft erkennen, daß in der ersteren Lösung noch kaum eine halbwegs kräftige Entwicklung eingesetzt hatte, während in der zweiten schon eine kräftige Decke und ebensolcher Bodensatz gebildet war.

Bei reichlicher Durchlüftung einer gärenden Zuckerlösung kann also sehr wohl ein Teil des Alkohols nicht bloß zum Aufbau der Zellen, sondern auch zur Bildung von Fett verwertet werden und dies schon in einem so frühen Zeitpunkt, wo noch unzersetzter Zucker reichlich vorhanden ist.

Es fragt sich nun, ob nicht in der ungeheuer umfangreichen Gärungsliteratur das Auftreten der Granula bei reichlicher Lüftung schon verzeichnet ist. Eine schätzbare Fundstelle bietet in dieser Frage

die Veröffentlichung von Leopold Nathan und Willy Fuchs (Zeitschrift f. d. gesamte Brauwesen, XXIX) „Über die Beziehungen des Sauerstoffes und der Bewegung der Nährlösung zur Vermehrung und Gärtätigkeit der Hefe“.

Befunde der Versuchsreihe 5. Ruhige Gärung I ergab: „Sehr kräftige glänzende glykogenhaltige Zellen von großer Gleichmäßigkeit“. Rühren und Lüften II: „Zellen von gleichmäßiger Größe, etwas gestreckt, sehr zusammenballend; das Plasma ist sehr stark granuliert und enthält viele kleine Körnchen“. Lüftung ohne Rühren III: „Ebenfalls stark zusammenballend, die Zellen sind meist rundlich, weniger stark granuliert, als bei Versuch II“. Rühren allein IV: Zellen sind sehr stark zusammengeballt, teilweise etwas gestreckt, wenig granuliert, nähern sich im Aussehen am meisten denen von I. Als Gesamtergebnis in bezug auf die Granulierung der Zellen ist ohne Zweifel diesen Befunden zu entnehmen, daß mit der größeren Luftzufuhr auch die Granulierung, d. h. Fettbildung kräftiger auftritt.

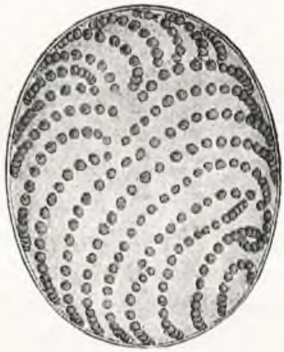


Abb. 11.
Fadenförmige Anordnung von glänzenden Körnchen in einer Hefenzelle. 5000 fach. Nach Hieronymus.

Sofern das Fett durch Umwandlung des Alkohols zustande gekommen ist, muß natürlich auch die Gärungsgleichung Fehlbeträge an Alkohol aufweisen und es ist jetzt sehr begreiflich, daß E. Giltay und J. H. Aberson bei starker Lüftung nur 75 % gegen die normalen 90 % des vorhandenen Zuckers nach den Verhältnissen der alkoholischen Gärung gespalten auch stark nachweisen konnten, welches Verhältnis, wenn geschwächt, zwischen den erzeugten absoluten Alkoholmengen bestehen bleibt.

Am einfachsten würde uns die Sachlage klar werden, wenn wir die Gärung in einer Tröpfchenkultur verfolgen könnten. Anfänglich, so lange die Vermehrung anhält, dürfte alles ungefähr nach der alkoholischen Gleichung verlaufen; nach Wochen, wenn die Zellen voller Fetttröpfchen sind, wie in Abb. 8, würde man wohl nur noch wenig Alkohol nachweisen können.

Man wird sich nunmehr vorstellen müssen, daß die Zelle den Alkohol der umgebenden Flüssigkeit geradezu aufsaugt und ihn an der Oberfläche des Plasmas zu Fett kondensiert, vielleicht in den Chondriokonten, deren Verlauf durch die Fettkügelchenreihen angedeutet sein

dürfte. Zu solcher Annahme verleiten besonders die Abbildungen der Hefe von Hieronymus[1]), von denen eine hier angefügt sei. Abb. 11. Wie nichtgärende Pilze, z. B. Endomyces vernalis, den Zucker zu Fett verarbeiten, ist fraglich. Sie verhalten sich ähnlich wie die Blatt- und Schildläuse, die Zucker saugen und schließlich voller Fetttröpfchen sind.

Den Alkohol als Reservestoff anzusprechen, ist nicht angängig; eher schon das Fett; dessen Bedeutung liegt aber wohl mehr darin, daß es den Zucker bezw. Alkohol in eine osmotisch unwirksame Form überleitet, die immer neue Zucker- oder Alkoholmengen der Zelle zuströmen läßt. In ganz jungen Sproßzellen der Bierhefe sieht man regelmäßig solche Fettgranula, die aber wieder vom Plasma resorbiert werden können, ähnlich wie die transitorische Stärke in den höheren Pflanzen. Durch diese Fettgranula kommen in den Tröpfchenkulturen die für die Kulturhefe so charakteristischen groben Schatten zustande, im Gegensatz zu den helleren Schatten der Zellgruppen von wilden Hefen — ein Umstand, den ich für die biologische Analyse des Bottichbieres u. dgl. ausgewertet habe und durch den diese Kulturmethode ihre große Bedeutung in den Laboratorien der Gärungsbetriebe erlangt hat.

Die einzelnen Zellen einer Hefevegetation haben nicht die gleiche Veranlagung zur Fettspeicherung und die dafür geeigneten übernehmen sich dann geradezu darin, bis sie nicht mehr sproßfähig sind, opfern sich also in dem Kampf gegen den Zucker für die anderen. Meiner Auffassung nach sind Gärung und Fettbildung Abwehrmaßregeln der Hefe gegen die schädigende Wirkung eintrocknender Zuckersäfte auf den Oberflächen süßer Früchte u. dgl.

Das Vorkommen von gärenden und fettspeichernden Hefen, besonders von Torulaarten (T. pulcherrima u. a.) auf Obst oder in Nektarien (Anthomyces Reukaufii) spricht dafür. Die Kultur dieser letzteren Art ist wegen der leichten Verfettung geradezu mit Schwierigkeiten verknüpft. In dem Sporn des Löwenmauls würde sie an Verfettung zugrunde gehen, wenn nicht vereinzelte Zellen gleichsam als Eiweißgeneration den Fortbestand der Art beim Übertragen durch Insekten (Hummeln, in denen sie überwintern, wie Grüß gezeigt hat) auf die Frühjahrsblüten sicherten.

Wie in dem Nektar infolge des reichlichen Zuckers und der nur spärlichen Stickstoffnahrung die Hefe zum Verfetten neigt, so auch die

[1]) Ber. der deutsch. bot. Gesellsch. 1893 Heft 2.

Kulturhefe in der Wildierschen Lösung, deren Gehalt an Ammoniaksalzen wegen deren Schwerverdaulichkeit gleichkommt der Gegenwart einer nur spärlichen Menge leicht assimilierbaren Stickstoffs. Ehe nun hier die Plasmasynthese vorwärtskommt und ein Aussprossen fördert, hat das Chondriom der Zelle unentwegt an der Fettsynthese gearbeitet und einen größeren Vorrat davon geschaffen, der auf die Sproßtätigkeit lähmend wirkt.

In dem Fernhalten des Sauerstoffs besitzen wir — wie meine Versuche und die früheren von Nathan und Fuchs dargetan — ein einfaches Mittel, die Fettbildung zu verhindern und die Zellen gesund und sproßtüchig zu erhalten.

Die Annahme eines besonderen „Bios“ ist nicht mehr nötig und die Versuche, dasselbe zu isolieren und nachzuweisen, erscheinen nunmehr aussichtslos.

Die Bioshypothese hat ihre Schuldigkeit getan, indem sie die Forscher jahrzehntelang in einer gewissen Spannung und Aufregung erhielt und zu interessanten Versuchen anregte, sie kann aber jetzt ad acta gelegt werden.

Kleine Mitteilungen

Ergänzende Nachträge aus der Literatur betreffend Bios, Hefewachstum in Minerallösungen, Alkoholassimilation u. dgl.

Von P. Lindner

Welche Gründe veranlaßten Pasteur (1857), als Stickstoffquelle bei Gärversuchen Ammoniaksalze zu verwenden? Es lag ihm daran, die Hefe bezw. das Milchsäureferment in einer ganz klaren Lösung auszusäen und die kleinen körnigen Beimengungen von irgendwelchen stickstoffhaltigen Bestandteilen und Kreide auszuschalten, damit man bei eintretender Gärung nicht mit dem Einwand kommen konnte, daß erstere ihre Zerfallsbewegungen auf den Zucker übertragen hätten, wie es der Liebigschen Anschauung der Gärung entsprach. Gerade das Vorhandensein vieler körnchenartiger Bestandteile in den vordem üblichen Nährlösungen hatte auch die ähnlich gestalteten Fermente, wie das Milchsäurebakterium übersehen oder als unwesentlich für die Umsetzungen ansehen lassen. Indem zu der klaren Lösung mit Zucker, Ammonsalz und phosphorsaurem Kali und Magnesia nur Spuren des Ferments gegeben wurden, konnte die Zerlegung des Zuckers eben nur auf die Vermehrung des Ferments und nicht auf

eine Kontaktwirkung im Sinne von Berzelius zurückgeführt werden. Die Gärung erschien nun eher als ein einfacher Ernährungsprozeß, bei dem der Zucker und die Ammonsalze die Bausteine für das Plasma des Gärungserregers liefern und dabei selbst zerlegt werden. Eine Kontaktsubstanz wirkt in anderem Sinne, sie gibt weder Substanz ab, noch nimmt sie solche auf, bleibt also der Menge nach unverändert. Nach Liebig sollten es stickstoffhaltige Verbindungen sein, wie Albumin, Kasein, Fibrin u. dgl. oder die Flüssigkeiten, welche sie einschließen, wie Milch, Blut, Urin, die in Berührung mit Luft von dieser den ersten Anstoß zum Zerfall erhalten. Zu der Auffassung, daß die Luft ein primum movens bei Gärungsvorgängen abgebe, war Gay-Lussac gelangt gelegentlich der Beobachtung, daß Most nach jahrelanger Aufbewahrung nach dem Appertschen Verfahren nach bloßem Umgießen in ein anderes Gefäß in kurzer Zeit in Gärung überging.

A. Mayer (1869) benutzte nicht wie Pasteur und Duclaux weinsaures Ammon, sondern salpetersaures Ammon nebst Zucker und zeigte so, daß die Hefe ihren C-Bedarf dem letzteren entzog.

A. Schulz (1878) züchtet den Kahmpilz in weinsaurem Ammoniak und Alkohol und stellt durch Analyse fest, daß der C-Zuwachs in der Hefe größer ist, als dem vorhandenen C in der Weinsäure entspricht.

Nägeli (1879) fand bei Durchlüftung einer mit Bierhefe angestellten Lösung von weinsaurem Ammon und Zucker eine 12fache Vermehrung der Hefetrockensubstanz und eine Zunahme des Fettes von 5 auf 12,5 %. Dabei war von 1 g Hefe (Trockengewicht) 40 g Rohrzucker vergoren worden.

Winogradski (1884) findet Kalzium für Mykoderma entbehrlich, jedoch nicht Mg; Kalium kann durch Rubidium vertreten werden.

E. Laurent (1890) findet die einfachen Alkohole der Fettreihe, die Fettsäuren, ferner Benzoesäure, Salizylsäure usw. für Hefe nicht assimilierbar, dagegen Essigsäure in Form ihrer Alkalisalze, Milchsäure, Bernsteinsäure, Weinsäure, Glyzerin, Mannit und die meisten Hexosen brauchbar.

Wehmer benutzt 1891 mit Erfolg mineralische Nährlösung + 3—7 % Alkohol zur Kultur von Penicillium.

W. Seyfert (1900) bringt 36 Stunden alte Mykodermakulturen auf den feuchten Gipsblock bei 25° C und stellt nach 24 Stunden fettige Körperchen in den Zellen fest.

Van Laer (1901) findet, daß auf weinsaurem Ammon allein Mykoderma nicht angeht, jedoch bei Alkoholzugabe kräftig wächst. In 100 ccm der Mayerschen bezw. der Nägelischen Lösung mit je 3 % Alkohol erhält er 0,554 bezw. 0,576 g Erntegewicht. Freies Ammoniak, koaguliertes Eiweiß, Fibrin, Kasein, Gluten sind für Mykoderma nach ihm nicht als N-Quellen brauchbar. Der Alkohol kann nicht durch Dissaccharide ersetzt werden, wohl aber durch Dextrose in der Mayerflüssigkeit, jedoch bleibt auch Dextrose unberührt, wenn $CaCl_2$ statt $Ca_3(PO_4)_2$ gebraucht wird. Mykoderma auf

Bier mit 12% Alkoholzusatz gibt keine Hautbildung, dagegen auf Würze + 12% Alkohol. In 150 ccm Hefewasser, dem 3% Dextrose zugegeben, beträgt das Zellengewicht nach dem Verschwinden der Dextrose 1,687 g, bei 3% Alkohol (statt Dextrose) war derselbe schon nach Bildung von 1,114 g Zellen aufgebraucht. Alkohol wird also schneller assimiliert und verbraucht bezw. veratmet als Zucker. Noch mehr ersichtlich ist die Bevorzugung des Alkohols durch folgende Versuche. Hefewasser + 5% Dextrose + 3% Alkohol enthielt nach 7 Tagen noch 3,2% Dextrose, aber nur 0,3% Alkohol.

Nach 8 Tagen gab	ein Zellengewicht von	
Hefewasser allein	0,454 g	
„ + 3% Alkohol	1,971 g	und 0,5% Alkoholrest
„ + 2% Maltose	0,776 g	„ 1,4% Maltoserest
„ + { 2% „ + 3% Alkohol }	2,189 g	„ { 2 % „ 0,5% Alkoholrest }
Nach 30 Tagen gab	ein Zellengewicht von	
Hefewasser + 3% Alkohol	2,059 g	u. { 0 % Maltoserest 0 % Alkoholrest }
Nach 8 Tagen gab	ein Zellengewicht von	
Hefewasser + 2% Saccharose	0,463 g	
Nach 30 Tagen gab	ein Zellengewicht von	
Hefewasser + 2% Saccharose	0,460 g	
Nach 8 Tagen gab	ein Zellengewicht von	
Hefewasser + 2% Saccharose „ + 3% Alkohol	1,685 g	u. { 2 % Saccharoserest 0,5% Alkoholrest }
Nach 30 Tagen gab	ein Zellengewicht von	
Hefewasser + 2% Saccharose „ + 3% Alkohol	1,960 g	u. { 0 % Saccharoserest 0 % Alkoholrest }

Die Mykodermaernte von mehreren Litern Würze, mit Äther extrahiert, ergab 12 g eines grünlichen Fettes, das aus wenig Olein neben festen Glyzeriden bestand.

Wildier behauptet 1901, daß eine Substanz „Bios“ nötig sei, um Hefe bei geringster Aussaat in mineralischer Nährlösung zum Wachsen zu bringen.

Perrier zeigt 1903, daß in mineralischer (Raulinscher) Lösung sowohl mit Zucker als auch mit Alkohol als C-Quelle Eurotiopsis Gayoni reichlich Fett bildet.

Kossowicz stellte 1903 zahlenmäßig die Vermehrung verschiedener Hefen, wie von der Weinhefe S. ellipsoideus I Hansen und der Brennereihefe Rasse II in Ammonsalz-Zuckerlösungen fest und beobachtete auch, daß Schimmelpilze und Kahmhefen die Hefevermehrung darin auffallend begünstigen. Eine Andeutung, daß die Hefezüchtung in Ammonsalzen technisch bedeutungsvoll sein könnte, gibt er jedoch nicht.

Chrzaszcz (1904) stellt in ähnlichen Versuchen die günstige Wirkung von löslichem einfach basischen Kalzium- und Magnesiumphosphat auf die Hefevermehrung fest.

P. Lindner bringt 1905/6 die Ergebnisse zahlreicher Assimilationsversuche mit Hefen auf Ammonsulfat-Zuckeragar. Woch. f. Brauerei 1905, Nr. 40 u. 1906, Nr. 40.

1908 erscheint eine Arbeit von Hasselbring „The Carbon Assimilation of Penicillium in Botanical Gazette 45; er züchtet den Pilz in einer mineralischen Nährlösung mit 1 g NH_4NO_3, 0,5 g KH_2PO_4, 0,25 g $MgSO_4$ in 100 ccm und benutzt als C-Quelle Alkohol, äthylschwefelsaures Kali ($C_2H_5KSO_4$), Äthylnitrat ($C_2H_5NO_3$), Äthylazetat ($CH_3COOC_2H_5$), Kaliumazetat (CH_3COOK) und Essigsäure (CH_3COOH). Jede Flasche erhielt 50 ccm der Nährlösung. Nach 10 Tagen wurde der Pilz geerntet und das Trockengewicht bestimmt.

Bei Zugabe von 0,46 g Alkohol (= 0,2 g Moleküle im Liter) erhielt er nach 10 Tagen etwa 115 g Trockenpilz.

Bei Zugabe von 0,69 g Alkohol (= 0,3 g Moleküle im Liter) erhielt er nach 10 Tagen 93 g Trockenpilz,

Bei Zugabe von 0,69 g Alkohol (und 0,004 n HCl bezw. n HNO_3 bezw n H_2SO_4 stieg die Ernte auf 118 bezw. 144 bezw. 141 g Trockenpilz.

Geringe Säurezugaben wirkten also wachstumsfördernd, besonders kräftig die Salpetersäure. Die Flasche mit Salzsäure erhielt noch 0,25 g KCl pro 100 ccm, um die Einführung eines neuen Ions, Cl zu vermeiden. Keine Kultur zeigte Sporenbildung. Die Esterverbindungen von Alkohol mit Mineralsäure sind als C-Quelle wertlos. Nur die leicht oxydierbaren Verbindungen besitzen einen Nährwert für den Pilz.

Der Alkohol tritt wahrscheinlich erst nach einer Dissoziation in Äthyliden und Wasser mit den Bestandteilen des Protoplasmas in Verbindung. $CH_3CH_2OH \rightleftarrows CH_3CH = + HOH$. Bei gewöhnlicher Temperatur geht nur $0{,}01\,^0/_0$ des Alkohols diese Dissoziation ein, bei 650^0 dagegen $100\,^0/_0$. In Verbindung mit Säuren steigert sich dieselbe bedeutend, so bei der Äthylschwefelsäure $CH_3CH_2OSO_2OH \rightleftarrows CH_3CH = + \begin{array}{l}-H \\ -OSO_2OH\end{array}$. Die Schwefelsäure regeneriert und verbindet sich von neuem mit Alkohol zu Äthylschwefelsäure, während das Äthyliden Wasser zersetzt, um Äther zu bilden:

$$\begin{array}{l} CH_3CH{<}^{H} \\ \quad\quad\quad\;\; O \\ CH_3CH{<}_{H} \end{array}.$$

Gegen eine Bindung des zweiwertigen Äthyliden $CH_3CH =$ mit Protoplasma als Einleitung der Assimilation spricht, daß ätherschwefelsaures Kali, das sehr stark dissoziiert, als C-Quelle nicht vom Pilz verwendet wird.

Eine andere Wahrscheinlichkeit ist, daß Alkohol zu Aldehyd oder gar zu Essigsäure oxydiert wird. Die Förderung der Pilzernte durch die oxydierende Salpetersäure spricht sehr dafür. In den Kulturen konnte jedoch

keine Essigsäure nachgewiesen werden, auch dann nicht, wenn die Nährlösung unter der Pilzhaut entfernt und durch Alkohol (0,3 G. M.) ersetzt wurde. Duclaux hat ebenfalls nicht Essigsäure bei Aspergillus-Kulturen mit Alkohol nachweisen können, dagegen Oxalsäure. Bei Penicillium konnte Hasselbring keine Oxalsäure als Zwischenprodukt feststellen.

Bei der Kultur in Äthylazetat wurde beobachtet, daß die Säure ansteigt, folglich ist Alkohol schneller absorbiert als das Säureradikal und die Oxydation bis zur Säure scheint für den Pilz nicht zweckmäßig. Die Oxydation scheint beim Azetaldehyd still zu stehen. Von diesem kann nun die Zuckersynthese ausgehen. Die Oxydation des Alkohols zu Azetaldehyd vollzieht sich leichter, als die Reduktion der Essigsäure zu Azetaldehyd. Das langsame Wachstum des Pilzes auf essigsaurem Kalium spricht dafür. Das Essigsäureion wird zwar assimiliert, aber viel schwieriger als Alkohol.

1911 wurden von Lindner und Cziser die Reinkulturen der Berliner Sammlung auf ihr Assimilationsvermögen gegenüber Alkohol als einziger Kohlenstoffquelle in mineralischer Nährlösung geprüft und auf Anregung von Lindner dann von der V. L. B. ein Patent zur Züchtung von Hefen in Alkohol und mineralischer Nährlösung angemeldet, da sowohl auffallend große als auch durch rein weiße Farbe ausgezeichnete Hefe- und Pilzernten erzielt wurden. Hier war also die Verwendung der mineralischen Nährlösung mit Ammonsalzen als alleiniger Stickstoffquelle als technisches Verfahren ins Auge gefaßt.

Bei der mikroskopischen Untersuchung der Ernten wurde auch das Auftreten von Fett beobachtet. 1912 erschien die umfangreichere Mitteilung über die Alkoholassimilationsversuche, 1913 eine Ergänzung derselben über „Das Wachstum einiger Hefen und Pilze in gleichprozentigem Alkohol und Zuckerlösungen. 1914 lieferte dann noch Baudrexel einen weiteren Beitrag zu dem Thema: der Alkohol ein mehr oder weniger ausgezeichneter Nährstoff für verschiedene Pilze.

Auf Grund der Alkoholassimilationsversuche benutzte dann F. Ehrlich den Alkohol als Kohlenstoffquelle bei der Spaltung der Aminosäuren durch Gärung und erzielte dabei den Vorteil, daß die Produkte in großer Reinheit gewonnen werden konnten, was bei der Anwendung von Zucker als C-Quelle nicht der Fall war. Seit 1912 wurden an die Gärungsbetriebe von der V. L. B. Kulturen, welche den Nährwert des Alkohols darstellen, abgegeben.

A. Marbach benutzte seit 1913 schwefelsaures Ammon als Stickstoffquelle in Verbindung mit Melasse zur Hefeerzeugung im großen (Österr. Chemiker-Zeitung, 18. Jahrg. Nr. 8).

Kossowicz bringt in derselben Zeitschrift, Nr. 10, 1915, eine „Bemerkung zu A. Marbach, Neues Verfahren der Hefeerzeugung aus Zucker und Mineralsalzen“ und sagt zum Schluß:

„Die Ausnützungsmöglichkeit anorganischer Ammoniumverbindungen, wie salzsaures, schwefelsaures, phosphorsaures Ammon, durch größere Hefemengen und deren Überführung in organischen Stickstoff,. also in Hefeneiweiß, ist, wie aus den vorstehenden Ausführungen deutlich genug hervorgeht, der Wissenschaft nicht neu und wird ein Prioritätsstreit über die Einführung darauf beruhender Methoden in die Praxis der Gärungsgewerbe am zweckmäßigsten zu verschieben sein, bis das Berliner Institut für Gärungsgewerbe genauere Angaben über das ihm zugeschriebene Verfahren veröffentlicht haben wird.“ Im Heft II des VI. Bandes dieser Zeitschrift sind die auf die Mineralhefe bezüglichen Arbeiten ziemlich vollständig referiert und sei darauf verwiesen.

Die von Nagel und auch von Foth in Z. f. Spiritusindustrie 1915, Nr. 13, angegebenen Verfahren, Mineralsalze statt pflanzlicher Stoffe als N-Quellen zu benutzen, gingen zunächst darauf aus, konzentriertere Rohzuckerlösungen zu vergären. Dabei wurde von ersterem auch eine ganz gute Hefeernte (Hefe M, obergärig) festgestellt. Mit der Gewinnung des Luftstickstoffes und der Möglichkeit einer billigen Herstellung von Ammonsalzen kam dann die Frage der Mineralhefefabrikation in Fluß. Nach den früheren Versuchen von Lindner und Stockhausen zeigten die luftliebenden Hefen vom Kahm- und Torulatypus in Ammonsalznährlösungen ein ausgezeichnetes Assimilationsvermögen und war es darnach vorauszusehen, daß nicht die Kulturhefen die Maximalernten liefern würden. Die Mineralhefe des Instituts für Gärungsgewerbe ist in der Tat keine Kulturhefe. Für ihre schnelle Einführung waren die voraufgegangenen erfolgreichen Bemühungen der Hefeschnelltrocknung von wesentlicher Bedeutung. Es sei hier auf die Broschüre von Dr. Max Winkel, „Die wirtschaftliche Bedeutung der Hefe als Nahrungs-, Futter- und Heilmittel“, München 1916, Verlag Carl Gerber verwiesen, welche auch den Entwicklungsgang der neuen Hefeindustrie schildert, allerdings nicht vollständig. Die Fütterung von frischer und getrockneter Hefe war schon lange bekannt und hatte Lindner in zwei Vorträgen im Jahrbuch der V. L. B. 1903 und 1904 bereits diesbezügliche Erfahrungen aus der Praxis gesammelt und veröffentlicht (455—460). Insbesondere hatte eine Mitteilung eines Bauers über die günstige Wirkung der Hefeverfütterung bei Milchvieh auf Milchertrag und Gesundheitszustand und eine vergleichende Kotuntersuchung die Bedeutung der Hefe als Futtermittel nahegelegt. Auf diesen Vortrag hin versuchte es Herr Braumeister Grohmann in Dresden-Plaue mit der Trocknung der Bierhefe ohne Zumischung von Trebern u. dgl. und erhielt ein Produkt von halber Faustgröße und eckiger Form, von dem Proben noch in der Schausammlung des Instituts vorhanden sind. Leider fand diese, in einem mit Dampf geheizten Trockenofen hergestellte Hefe keine Abnehmer, obwohl sie zunächst umsonst zur Schweinefütterung angeboten und für etwaige gesundheitliche Schäden Entschädigung versprochen

wurde. Einige Jahre später erst kam die Maschinenfabrik in Oschatz mit ihrem Hefetrockenapparat heraus, mit dem sie 1903 zum erstenmal Trockenhefe hergestellt hatte, die von der sächsischen landwirtschaftl. Versuchsstation Möckern als wertvolles Futtermittel anerkannt wurde. Im Jahre 1904 wurden auf ihre Veranlassung von der Nahrungsmittelfabrik von Dr. Klopfer, Dresden-Leubnitz Versuche zum Entbittern der Hefe vorgenommen (nach brieflicher Mitteilung vom 17. November 1919).

Im Oktober 1903 hat Lindner im Ausschuß für Hefe, Gärung und Kellerwirtschaft den Antrag gestellt: die V. L. B. möge Versuche anstellen, die Hefe in rationeller Weise zu trocknen, event. unter Beimischung von Feuchtigkeit aufsaugenden anderen Stoffen.

Lindner war (Jahrbuch V. L. B. 1903, S. 435) auf den Gedanken der Nutzbarmachung der Hefe für Nährzwecke gekommen infolge der Beobachtung, daß in Tröpfenkulturen gealterte Hefezellen plötzlich wieder aussprossen zu üppigen Sproßverbänden, was nur möglich ist durch Ausnutzung der Stoffwechselprodukte der bereits abgestorbenen oder schon absterbenden Zellen. Als Prof. Kutscher-Marburg dann die Mitteilung machte, daß die Selbstverdauungsprodukte der Pankreasdrüse und der Hefe ziemlich den Bestandteilen des Liebigschen Fleischextraktes entsprechen, entschloß er sich, Assimilationsversuche mit den verschiedenen Hefen und Pilzen seiner Sammlung gegenüber Leuzin, Tyrosin u. dgl., die ihm Prof. Kutscher zur Verfügung stellte, zu machen.

Es lag ihm dabei auch die Absicht zugrunde, die Bezeichnung Faex cerevisiae für Hefe, die auch Bail in seiner Dissertation „de faece cerevisiae“ 1857 gebraucht hatte, als ungerechte Herabsetzung zu brandmarken. Eine Ehrenrettung brachte dann ein Vortrag von M. Delbrück in Brüssel, der „Die Hefe ein Edelpilz“ betitelt war. Die eigentliche technische Entwicklung der Nährhefenfrage hat erst nach der Brüsseler Tagung eingesetzt und in dem Bau einer Anzahl Hefetrocknungsanlagen ihren vorläufigen Abschluß gefunden.

Über die Herstellung der sog. Eiweiß- oder Mineralhefe fehlen noch ausführlichere Mitteilungen. Wohl und Scherdel haben neuerdings ein Verfahren (Patent Nr. 310580 Klasse 6 Gruppe 5) beschrieben, bei dem sie gärkräftige Preßhefe gewinnen unter Benutzung von etwa gleichen Teilen Ammoniakstickstoff und organischem Stickstoff.

Referate.

Lintner, C. J. Über die Nichtexistenz eines stärkebildenden Enzyms „Hemizellutase“ im Malz. Wochenschr. f. Brauerei **32**, 1915, S. 269.

In den letzten Nummern der „Wochenschrift für Brauerei“ fand sich die Übersetzung einer Arbeit von Ch. B. Davis, dem der Nachweis eines Enzyms im Malz gelungen sein sollte, das Hemizellulosen in Stärke umwandeln könne. Einer Nachprüfuug von Windisch u. Foerster hielt diese Entdeckung jedoch nicht stand. Nach Lintners Ansicht ist der Nachweis der Hemizellutasewirkung durch das Auftreten der blauen Jodstärkereaktion auf eine irrige Deutung dieses Befundes durch den Amerikaner zurückzuführen. Im Kleister kommen nämlich Stärkegele vor, die bei gewöhnlicher Temperatur von Diastase fast gar nicht angegriffen werden und mit Jod intensive Blaufärbung geben. In Wasser zerteilt und auf höhere Temperatur gebracht gehen diese Gele in Sole über, die mit Jod intensive Blaufärbung geben. Der Stärkekleister stellt nach Fouard ein Gemenge von Stärkegelen und Solen in allen möglichen Teilchengrößen dar. Wahrscheinlich geben nur die Sole mit Jod Blaufärbung und werden durch Diastase verzuckert. Bei entsprechenden Konzentrations- und Temperaturverhältnissen werden aus den Gelen immer neue Sole gebildet und von der Diastase gespalten. Im ersten Stadium der Diastasewirkung, sobald alle Stärke scheinbar gelöst ist, sind noch reichlich Komplexe vorhanden, die sich beim Abkühlen als Gele ausscheiden und dabei mit Jod sich bläuende Sole absorbieren. Bei Einwirkung eines Malzauszugs bei gewöhnlicher Temperatur verschwinden allmählich die mit Jod blau reagierenden Sole, so daß die sich nicht färbenden Gele zurückbleiben. Davis arbeitete bei seinen Versuchen mit einer aus Stärkekleister gewonnenen gelatinösen Substanz „Hemizellulose“. Diese ist jedoch in Wirklichkeit nichts anderes als mit Jod sich nicht färbendes Stärkegel, das in Wasser auf 80° erhitzt mit Jod sich blaufärbende Sole liefert. Dadurch daß Davis die geschilderten Umwandlungsvorgänge nicht in Rechnung zog, leitete er aus seinen Versuchsergebnissen falsche Schlüsse ab. Die von ihm auf Grund der angeblichen „Hemizellutasewirkung“ erhaltenen hohen Extraktzahlen dürften vermutlich auf Analysenfehlern beruhen. R. Heuß.

Windisch, K. Der Endvergärungsgrad der Biere, seine Regelung und seine Beziehungen zum Bottich- und Ausstoßvergärungsgrad der Biere. Wochenschr. f. Brauerei **32**, 1915, S. 285.

Dem Endvergärungsgrad der Biere — gemeint ist immer der „scheinbare“ Endvergärungsgrad — wird nach Ansicht des Verfassers noch viel zu wenig Beachtung geschenkt. Der Endvergärungsgrad gibt ein zuverlässiges

Maß für den Gehalt einer Würze an vergärbarem Zucker. Er soll weder zu hoch, noch zu niedrig sein. Ist er zu hoch, so können in der Praxis zwei Fälle eintreten: entweder wird der noch vorhandene Zucker bei der Bottich- oder Faßgärung ganz oder größtenteils vergoren, dann kann sowohl der Geschmack wie auch die Schaumhaltigkeit des Bieres leiden. Oder aber es bleibt ein größerer Teil des Zuckers unvergoren, dann besteht für die Haltbarkeit des Bieres Gefahr, indem schon vorhandene Organismen diesen Zucker in dem abgefüllten Bier vergären, sich vermehren und Trübung verursachen. Bei zu nieder liegendem Endvergärungsgrad enthält das Bier in der Regel zu wenig Alkohol und befriedigt geschmacklich nicht. Über die Höhe eines normalen Endvergärungsgrades findet man an keiner Stelle irgendwelche Vorschriften. Auch an berühmten Braustätten findet man statt der erwarteten Gesetzmäßigkeit große Mannigfaltigkeit. Man kann daraus schließen, daß auch an diesen Stellen nicht zielbewußt auf einen bestimmten Endvergärungsgrad hingearbeitet wird. Nur so viel steht fest, daß helle Biere einen höheren Endvergärungsgrad aufweisen sollen und meist auch aufweisen, als dunkle Biere. Auf Grund seiner Erfahrungen sieht Verfasser für helle Biere einen Endvergärungsgrad von 72—75 $^0/_0$, für dunkle einen solchen von 67—70 $^0/_0$ als normal an. Die Regelung des Endvergärungsgrades erfolgt beim Maischen. Das Verhältnis der unvergärbaren Dextrine zu den vergärbaren Zuckerarten wird hauptsächlich von der Höhe der im Sudhaus eingehaltenen Temperatur bestimmt. Niedrigere Verzuckerungstemperaturen bis etwa 65^0 C begünstigen die Bildung größerer Zuckermengen, höhere Temperaturen (67—68^0 C oder mehr) halten die Bildung von vergärbarem Zucker stark in Schranken. Die Vergärung im Bottich und auf dem Faß soll gleichfalls geregelt sein. Stark eingebraute Biere, namentlich Exportbiere, sind beim Ausstoß oft endvergoren, ohne daß ihr Geschmack leidet. Im allgemeinen ist dies jedoch nicht erwünscht. Der Unterschied zwischen Endvergärungsgrad und Ausstoßvergärungsgrad soll so geregelt sein, daß nicht aller Zucker schon vergoren ist. Der Bottichvergärungsgrad soll zum Ausstoßvergärungsgrad in einem bestimmten Verhältnis stehen. Es soll beim Schlauchen noch so viel Zucker vorhanden sein, daß im Bier die zum Wohlgeschmack gehörende Menge Kohlensäure noch gebildet werden kann.

Verfasser faßt seine Beobachtungen über die Zusammenhänge zwischen Endvergärungsgrad, Ausstoßvergärungsgrad und Bottichvergärungsgrad in folgenden Sätzen zusammen: 1. Ausschlaggebend für den Vergärungsgrad des Bieres beim Fassen und beim Ausstoß ist der Endvergärungsgrad. 2. Der Ausstoßvergärungsgrad soll dem Endvergärungsgrad bei hellen Bieren bis auf 3—4 $^0/_0$, bei dunklen Bieren bis auf 5—7 $^0/_0$ nahekommen. 3. Der Unterschied zwischen dem Ausstoßvergärungsgrad soll 10—16 $^0/_0$ betragen, wobei die höhere Zahl für schwächere, die niedrigere für stärkere Biere gilt.

R. Heuß.

Heuß, R. Versuche mit einer Bottichglasur. Zeitschrift f. d. gesamte Brauwesen 1915, **38**, S. 161.

Bei der Erörterung der Frage, ob sich eine Glasur für Gärbottiche eignet, sind in erster Linie folgende Punkte zu beachten: Die Widerstandsfähigkeit der Glasur gegen gärende Würze und die bei der Gärung auftretenden Erscheinungen. Etwaige geschmackliche Beeinflussung der gärenden Würze bezw. 4⁰/₀igen Alkohols. 2. Die Widerstandsfähigkeit gegen die gebräuchlichen Desinfektionsmittel in der bei Bottichen angewandten Konzentration. 3. Die Widerstandsfähigkeit gegen mechanische Reinigung.

Die in dieser Richtung geprüfte Bottichglasur ist die von der Firma Rosenzweig und Baumann in Kassel vor einigen Jahren auf den Markt gebrachte „Schildkrötenglasur". Nach dem Ergebnis der Untersuchungen befriedigt sie alle an sie gestellten Ansprüche, da sie sehr haltbar ist, keinen Geschmack abgibt und durch mechanische Reinigung mittels Bürsten kaum angegriffen wird. Gegen die meist gebräuchlichen Desinfektionsmittel ist die Glasur gleichfalls sehr widerstandsfähig. Die im Betrieb damit gemachten Erfahrungen lauten günstig. R. Heuß.

Heuß, R. Aluminiumfarbe als Anstrich für hölzerne Gärbottiche. Zeitschr. f. d. ges. Brauwesen **38**, 1915, S. 177 u. 185.

Im Herbst vorigen Jahres berichtete Windisch über eine Neuerung in der Brauerei, die er noch kurz vor Kriegsausbruch in Belgien kennen gelernt hatte und die darin bestand, Hefewannen und Gärbottiche nicht mehr mit einem Lackanstrich, sondern mit einem Anstrich von Aluminiumfarbe zu versehen, was sich sehr gut bewährt haben sollte. Über in deutschen Brauereien angestellte Versuche wurde gleichfalls vielfach günstig berichtet.

Verfasser prüfte die in Belgien verwandte Aluminiumfarbe „Novosol" der Firma J. C. Schultze in Berlin-Neukölln, sowie zwei andere im Handel befindliche Marken einer andern Firma mit Hilfe kleiner, eichener Versuchsbottiche auf ihre Widerstandsfähigkeit gegen gärende Würze und die bei der Gärung auftretenden Erscheinungen sowie gegen mechanische und chemische Reinigung, da ein Innenanstrich für Gärbottiche doch wohl nur dann für brauchbar angesehen werden kann, wenn er sich in der durch die Versuchsanstellung gekennzeichneten Richtung entsprechend bewährt. Die Versuche ergaben folgendes: 1. Die Anstriche beeinflussen die Gärung und die damit zusammenhängenden Erscheinungen in keiner Weise. Sie geben weder an gärende Würze, noch an 4⁰/₀igen Alkohol Geschmack ab und werden von den Gärungen nicht in nennenswertem Maße angegriffen. 2. Die Anstriche werden von fast allen gebräuchlichen Desinfektionsmitteln in der bei Bottichen üblichen Konzentration mehr oder weniger stark angegriffen. Eine Ausnahme macht nur Formaldehyd. 3. Gegen mechanische Reinigung mit Bürsten sind die Anstriche gleichfalls sehr wenig widerstandsfähig.

Auf Grund dieser Versuchsergebnisse halten wir die Verwendung von Aluminiumfarbe zum Innenanstrich von Holzbottichen nicht für geeignet.
R. Heuß.

Mansfeld, R. Beitrag zur biologisch einwandfreien Funktion der Abfüllapparate. Zeitschr. f. d. ges. Brauwesen 1915, **38**, S. 220.

Für das fertig filtrierte Bier, das des Schutzes der Kulturhefe entbehrt, sind die auf natürlichem Wege in Bierresten sich ansammelnden Fremdorganismen häufig die gefährlichsten Infektionserreger. Im Brauereibetrieb hat man darum besonders zu bekämpfen: 1. Jede Verwendung des Restbieres zum Nachstechen, Verteilen usw. 2. Die Infektion der Abfüllanlage bei jedesmaligem Abfüllen von Restbier. 3. Die Infektion des normalen Bieres beim Faßabfüllen mit Gegendruckapparaten durch den Schaumüberlauf aus den Transportfässern in den Gegendruckkessel. 4. Die gleiche Infektion beim Flaschenfüllapparat durch die in den Flaschen zurückgebliebenen Bierreste.

Die vorliegende Abhandlung befaßt sich insbesondere mit der Möglichkeit, inwieweit eine Infektion des gesunden Bieres durch aus Fässern oder Flaschen infiziertes Bier im Lagerkeller und beim Abfüllen verhindert werden kann. Auf die Infektionsgefahr durch die Abfüllapparate durch Rückluft und Überlaufbier ist schon von verschiedenen Seiten aufmerksam gemacht worden. So hat z. B. Casparé ein eigenes Leitungssystem für den Gegendruckapparat erdacht, um sowohl Rückluft als Rückbier unschädlich zu machen. Auch sonst ist man schon vielfach dazu übergegangen, wenigstens das besonders gefährlich erscheinende Überlaufbier nicht mehr in den Bierkessel zurück-, sondern in ein besonderes Gefäß wegzuleiten. Um nun auch noch die Rückluft keimfrei und damit unschädlich zu machen, müßte man sie auf dem Rückweg in den Gegendruckkessel ein steriles Wattefilter passieren lassen. Das Restbier selbst ist am besten für sich getrennt an eigener Anlage oder wenigstens als letztes vor der Reinigung des Apparates abzufüllen und rasch dem Konsum zuzuführen. Casparé schlug eine Pasteurisierung desselben vor, eine Maßregel, die ziemlich umständlich erscheint. R. Heuß.

Wüstenfeld, H. Versuche mit dem Seitzschen Essigfilter „Terra“. Die deutsche Essigindustrie 1915, **19**, S. 138.

Bei der Versuchsessigfabrik ist seit dem Jahr 1912 ein Tonfilter der Firma Seitz zu Versuchszwecken im Gebrauch, das sich nach den jetzt vorliegenden Ergebnissen gut bewährt hat. Man hat damit sowohl bei der schnellen Massenfiltration von einfachem Spritessig, wie auch bei der Feinfiltration von Qualitätsessigen gute Resultate erzielt, indem man selbst aus ganz bakterientrüben Essigen kristallblanke, vollkommen faserfreie Filtrate erzielte. Besonders letztere Eigenschaft ist bei der Essiggewinnung nach dem Orleansverfahren ein Vorzug, da man dadurch in die Lage versetzt wird,

nicht mehr bloß mit gut klärenden Rassen vom Typus B Xylinoides bezw. Orléanense Hbg., sondern auch mit solchen zu arbeiten, die den Essig zuweilen vorübergehend trüben (z. B. Bact. ascendens u. a.). Das Filtrat wird natürlich in diesem Fall erst nach öfterem Zurückgießen völlig klar. Die Filtration ersetzt natürlich nicht die Pasteurisation, wie ab und zu fälschlich angenommen wird, stellt aber ein geeignetes Mittel dar, sich durch Herstellung glanzheller Essige seine Kundschaft zu erhalten. R. Heuß.

Windisch, W. Praktische Erfahrungen und wissenschaftliche Erkenntnisse auf dem Gebiet der Malz- und Bierbereitung während des Krieges. Wochenschr. f. Brauerei **34.** 1917. S. 1, 9, 17, 25, 33, 41, 49, 57, 65, 75, 81, 93, 101, 113, 121 u. 129.

Verfasser will in seinem auf der Oktobertagung 1916 der Versuchs- und Lehranstalt für Brauerei in Berlin gehaltenen Vortrag vor allem einige Rückblicke auf die während des Krieges in praktischer und wissenschaftlicher Hinsicht gemachten Erfahrungen geben. Die Art des heutigen Bierbrauens weicht von den alten Brauertraditionen wesentlich ab. Der Gersten- und Malzmangel ließ den schwer betroffenen Brauereien zwei Wege offen: entweder man braute das Bier in altgewohnter Weise weiter, solange der Malzvorrat reichte, und hörte eines schönen Tages mit dem Brauen auf, oder aber man hielt den Betrieb durch Herstellung leichterer Biere aufrecht, indem man den Stammwürzegehalt langsam abbaute. Die Erwartungen, die man diesen leichten Bieren entgegenbrachte, waren nicht sehr hoch, man wurde jedoch vielfach angenehm enttäuscht durch die Eigenschaften dieser dünneren Biere, bei denen insbesondere die Schaumhaltigkeit meist überraschend befriedigte. Die Kampagne 1915/16 brachte neue Sorgen, die Gerste wurde noch knapper zugewiesen und war in ihren Eigenschaften nicht befriedigend. Insbesondere hegte man Befürchtungen wegen des hoch liegenden Eiweißgehalts. Windisch betrachtete jedoch diesen hohen Eiweißgehalt eher als ein Glück für die Brauer, da er wesentlich zu einer guten Schaumhaltigkeit und Vollmundigkeit der Biere beitrug. Die Lösung der Gersten auf der Tenne war unbefriedigend, doch erzielte man vielfach Erfolge mit der bewußten Herstellung von Kurzmalz. Man mußte eben sehen, wie man mit den zugewiesenen Gersten, die natürlich die verschiedensten Eigenschaften aufwiesen und nicht nach Wunsch ausgewählt werden konnten, fertig wurde. Solche Betriebe, die schon früher mit mangelhaft gelösten Malzen umzugehen gelernt hatten, sahen den schlechten Gersten und Malzen natürlich viel ruhiger entgegen als andere Brauereien, denen solche Malze neu waren. Im Einklang mit der Verarbeitung auf der Tenne mußte natürlich die Sudhausarbeit stehen. Gute Erfolge wurden mit dem Vormaisch-Eiweißrastverfahren erzielt, das nach Ansicht von Windisch bei richtiger Anwendung das gegebene Maischprinzip für unterlöste Malze darstellt. Es ist zugleich mit einer in

den jetzigen Zeiten nicht zu unterschätzenden Mehrausbeute verbunden. Nachteilig wurde an ihm früher öfters der sog. Vormaischgeschmack empfunden, doch wurde dieser infolge der Verdünnung der Biere, mit der naturgemäß auch eine Verdünnung der unerwünschten Geschmacksstoffe Hand in Hand geht, weniger unangenehm empfunden. Als mit in Frage kommende Ursachen dieser Erscheinung führt Windisch die Temperatur der über Nacht stehenden Maische, die Beschaffenheit des Brauwassers, vor allem aber die Hülsen an. Letztere sollten daher erst beim eigentlichen Maischprozeß zugegeben werden. Im allgemeinen wurden mit dem Vormaisch-Eiweißrastverfahren günstige Erfahrungen gemacht. Der Geschmack der Kriegsbiere überhaupt befriedigte mehr, als man ursprünglich angenommen hatte. Verfasser führt diese Erscheinung auf die bereits oben gestreifte Verdünnung aller Geschmacksstoffe — auch der schlechten — in den leichteren Bieren zurück. Wesentlich für die gute Schaumhaltigkeit eines Bieres ist vor allem auch ein guter Kohlensäuregehalt, der auch für den Geschmack und die Haltbarkeit des Bieres von größter Wichtigkeit ist. Richtige Spundung und vor allem nicht zu niedrige Vergärung, namentlich bei hellen Bieren, sind hier sehr wesentlich. Hochvergärbare und hochvergärende Würzen waren den Kriegsverhältnissen am meisten angemessen. Ebenso wichtig sind natürlich Art und Eigenschaften der verwendeten Hefe. Oft versagt eine Hefe, die vorher tadellos arbeitete, ganz plötzlich, ohne daß man sich den Grund dieser unangenehmen und in manchen Jahren chronisch auftretenden Erscheinung erklären kann. Man hat dabei schon an die Wirkung gewisser Hefengifte gedacht. Verfasser ist jedoch eher der Ansicht, daß die Ursache des plötzlichen Unvermögens in rein mechanischen Gründen zu suchen ist, indem die Hefe durch gewisse Körperchen einfach „verschmiert" wird. Durch Maßnahmen, die der Bildung solcher Teilchen entgegenwirken, konnte Besserung erzielt werden. Hierher gehören Verbesserung des Brauwassers, künstliche Säuerung, Vormaisch-Eiweißrastverfahren usw. Für die Güte der Biere ist eine gute, gesunde Bottichgärung von größter Bedeutung. Unnormale Gärung fällt meist mit Übelständen in Mälzerei und Sudhaus zusammen. Erwünscht ist meist eine flotte, d. h. hintereinander weg gehende und relativ hohe Vergärung auf dem Bottich zur Erzielung eines reinen, schneidigen Geschmacks. Biere aus trägen und stockenden Vergärungen haben nicht das richtige Alkohol-Extraktverhältnis. Der Alkohol trägt aber nicht nur zur besseren Haltbarkeit des Bieres bei, er ist auch ein immer noch nicht genügend gewürdigter Geschmacksbestandteil des Bieres, der die Zunge angenehm beschäftigt und auch zur Vollmundigkeit beiträgt. Hohe Vergärung ist auch ein Gegengewicht gegen gewisse unerwünschte Ausscheidungen des Bieres, da der Säuregrad, von dem die Auscheidungen abhängig sind, dadurch erhöht wird. Die Gärführung soll nach Ansicht des Verfassers nicht zu warm gehalten werden, obwohl dies für die Lebensdauer und Reinheit der Hefe besser

wäre. Kalt vergorene Biere sind im Geschmack edler und reiner. Die Hefe ist — sofern sich nicht ein Wechsel infolge Nachlassens der Vergärung empfiehlt — erst zu wechseln, wenn die Klärung des Bieres auf dem Schaugläschen nicht mehr befriedigt. Oft erzielt man auch mit einer andern Hefe nicht den gewünschten Erfolg, da sich manchmal die Würze in ihrem Charakter nicht eignet. Ändert man diesen, z. B. durch Verbesserung des Brauwassers, biologische Säuerung, Änderung des Maischverfahrens, so ändert in der Regel auch die vorher beanstandete Hefe ihr Verhalten und entartet nicht mehr so leicht. Empfehlenswert ist immer der Bezug von Hefe durch Vermittlung einer Untersuchungsstation und Herführung im eigenen Betrieb, beispielsweise nach dem Verfahren von Stockhausen-Coblitz. Auftretender Hefegeschmack im Bier, sogenannter Einfachbiergeschmack, wird öfters in Bieren beobachtet, die bei der Gärung warm geführt wurden, als bei solchen mit kälterer Gärführung. Auf die frühzeitigere Entartung der Hefe übt natürlich auch die verringerte Konzentration der Stammwürze einen starken Einfluß aus.

Ein großer Helfer in den Kriegsnöten war der Hopfen, besonders für die hellen Biere, die ja bekanntlich viel empfindlicher sind als die dunklen. Verfasser unterscheidet eigentlich nur zwei Typen von Bieren, Malzbiere und Hopfenbiere, deren wichtigste Vertreter das Münchener und das Pilsener Bier sind. Für die Entwicklung dieser beiden Biersorten waren in erster Linie die Gersten- und Wasserverhältnisse grundlegend. Die erste und unerläßliche Grundbedingung für die Herstellung eines feinen, typischen, hellen Hopfenbieres ist ein ganz weiches Wasser. Die Münchener vertragen dagegen ohne Schaden eine ziemlich bedeutende Karbonathärte. Gipsgehalt im Wasser ist auf jeden Fall schädlich.

Die dem Braugewerbe durch den Krieg gestellten Aufgaben waren sehr schwierig zu lösen, die Erfolge sind im Hinblick darauf, daß die selbständige Auswahl von Gerste und Malz nicht möglich war, befriedigend. Dadurch wurde ein planmäßiges Arbeiten außerordentlich erschwert. Hauptforderung war, den Mälzungsschwand nach Möglichkeit einzuschränken und im Sudhaus die größtmögliche Ausbeute zu erzielen. Zur Erzielung dieser Ausbeute ist aber ein gut eingerichtetes Sudhaus Hauptbedingung. Im Mittelpunkt des modernen und allen Zwecken voll entsprechenden Sudhauses steht das Maischefilter, dem Windisch seit seinen frühesten Zeiten das Wort geredet hat. Als dessen Vorzüge zählt Verfasser auf: 1. das Maischefilter macht unabhängig von der Mälzerei und gestattet die Verarbeitung jeden Malzes; 2. das Maischefilter arbeitet sicherer und schneller als der Läuterbottich, es erspart dadurch Zeit, macht das Sudhaus leistungsfähiger und gewinnt dadurch einen hervorragenden Einfluß auf die Dampfökonomie; 3. das Maischefilter arbeitet mit weniger Anschwänzwasser bei höchster Ausbeute. Er erläutert diese Leitsätze eingehend. Die seinerzeit von Schifferer

aufgezählten Nachteile des Maischefilters gelten für die neuen Konstruktionen nicht mehr oder doch nur in stark verringertem Grade. Die früher vielfach zutage tretende Abneigung gegen das Maischefilter ist jedenfalls nicht mehr berechtigt. Windisch bringt zahlenmäßige Belege dafür, daß eine neuzeitliche Sudhausanlage mit einem Maischefilter wesentlich rentabler arbeitet als das alte Sudhaus. Zur Erzielung der vollen Leistung dieses Apparates ist jedoch eine tadellos arbeitende Sechswalzenschrotmühle nötig. Auch nach dem Krieg wird sparsames und rationelles Arbeiten für die Brauereien Hauptbedingung sein; bei Neubauten wird daher die Aufstellung einer Maischefilteranlage das gegebene sein.

II. Wissenschaftlicher Teil. Eine ihrer Wichtigkeit nach an erster Stelle stehende Frage für die Brauerei ist die Frage der Azidität, oder wissenschaftlicher ausgedrückt, die Frage der Wasserstoffionenkonzentration. Alle Vorgänge in der Brauerei lassen sich auf zwei Generalnenner zurückühren: Lösung und Ausscheidung. Als wirklicher Säuregrad oder wirkliche Azidität kommt nur die dissoziierte Säure, mit andern Worten die Wasserstoffionenkonzentration in Betracht. Sie ist bestimmend für die Geschwindigkeit und den Grad der Enzymtätigkeit, ebenso wie für die Ausscheidungsvorgänge in der Hitze und in der Kälte. Sörensen hat ihren Einfluß auf die Vollmundigkeit des Bieres, Emslander den Einfluß auf die Eiweißkrankheiten des Bieres nachgewiesen. Alles Alkalische, d. h. alles, was Azidität vernichtet, ist nachteilig. Unter diesem Gesichtswinkel ist auch die Brauwasserfrage insbesondere mit Bezug auf den Gehalt eines Brauwassers an Karbonaten zu beurteilen. Die Karbonate vernichten zwar gleichermaßen Säure, sie sind aber nicht in gleichem Grade schädlich, sondern in verschiedenem Maße. Verfasser hat mit seinen Mitarbeitern über die Schädlichkeit der einzelnen Karbonate Versuche angestellt. Die Würzesalze, die mit den Karbonaten in Wechselwirkung treten, sind die Phosphate und zwar in erster Linie die primären oder sauren Phosphate. Je nach der Art der Umsetzung wird die Azidität und auch die Wasserstoffionenkonzentration erniedrigt oder erhöht. Das Magnesiumphosphat ist gegenüber dem kohlensauren Kalk ein stärkerer Säurevernichter und dementsprechend schädlicher. Am gefürchtetsten ist aber die Soda im Brauwasser, die lauter lösliche, also in der Würze verbleibende, alkalische, sekundäre Phosphate liefert. Was die Rolle der Erdalkalisulfate Gips (schwefelsaurer Kalk) und Bittersalz (schwefelsaure Magnesia) im Brauwasser betrifft, so ist letzteres nicht beliebt, während man den Gips unter Umständen als vorteilhaft ansieht, was sich in dem vielfach geübten Gipsen des Wassers zeigt. Die günstige Wirkung des Gipses beruht darauf, daß er das alkalische, sekundäre Kaliumphosphat in das günstige, saure, primäre Kaliumphospat überführt und so die Alkalität erniedrigt. Der Gips geht dabei über in Kaliumsulfat. Die Umsetzung erfolgt jedoch im allgemeinen nicht restlos nach Art der theoretischen Glei-

chungen, es bleibt wohl stets noch Gips im Bier unzersetzt zurück. Beide Sulfate jedoch verbessern keinesfalls den Geschmack des Bieres. Das ist zweifellos ein Nachteil des Gipsens, wie auch ein Nachteil dieser Art der Bekämpfung der Karbonate darin besteht, daß stets Azidität verloren geht und zwar auf Kosten der wertvollen Phosphorsalze. Was die Magnesiasalze betrifft, so wirken sie alle alkalitätsbildend oder -erhaltend und sind infolgedessen mehr oder weniger als Schädlinge anzusehen und zu bekämpfen. Neben den mineralischen spielen auch die organischen Salze in der Würze bei der Umsetzung der Brauwassersalze mit den Würzesalzen eine wesentliche Rolle. Diese organischen Salze finden sich vielleicht schon in der Gerste vor, bilden sich aber jedenfalls beim Mälzen in nicht unbeträchtlicher Menge und geben dann beim Maischen und Würzekochen zu Umsetzungen Veranlassung. Unter den in Frage stehenden organischen Säuren ist in erster Linie die Milchsäure zu erwähnen. Verfasser hat insbesondere deren Salze, die Laktate, studiert und gefunden, daß diese in erster Linie auf die Phosphate der Würze einwirken. Außerdem setzen sie sich natürlich auch mit den Salzen des Brauwassers um. Die auf diesem Gebiet vom Verfasser durchgeführten Studien haben ihn im Laufe der Zeit zu der Erkenntnis geführt, daß die Brauwasserfrage gewissermaßen zu einer Unterfrage der großen Mineralsalzfrage überhaupt geworden ist. Neben den Salzen des Wassers müssen aber auch die Mineralsalze der Gerste und des Malzes mehr beachtet werden und dürfen nicht mehr hinter der Eiweißfrage, die bisher alles beherrschte, zurückstehen. Die Salze der Gerste spielen nicht nur als Würzebestandteile in ihrer Beziehung zur Ernährung der Hefe eine Rolle (hauptsächlich das phosphorsaure Kali), sondern auch in ihrem Verhalten beim Mälzen, Maischen, Würzekochen und Kühlen. Wenn man den Kalksalzen des Wassers — außer dem Karbonat — gewisse günstige Wirkungen in bezug auf die Azidität zuschreibt, den Magnesiaverbindungen aber im allgemeinen weniger günstige oder gar schädliche, so wird dies wohl in erhöhtem Maße auch für die Salze der Gerste gelten, da deren Mengen in letzterer verhältnismäßig bedeutender sind. Verfasser hält kalkreichere Gersten für vorteilhafter als magnesiareiche. Wenn diese Annahme durch geplante Versuche bestätigt wird, so könnte man vielleicht daran denken, den Kalkgehalt der Braugersten durch geeignete Düngungsmaßnahmen zu erhöhen. Die Zusammensetzung des Gerstenkorns muß unter zwei Gesichtspunkten beurteilt werden, einmal vom natürlichen Standpunkt als Erhalter der Art und weiter vom Standpunkt der Eignung als Brauware aus. Neben den Salzen der Gerste ist auch die Rolle des Gersteneiweißes und besonders die des Eiweißschwefels wichtig. Auf die Enzymbildung haben bekanntlich gewisse Säuren einen Einfluß; diese Erkenntnis wird ja bei der Darstellung künstlicher Diastase benutzt. Bei der Überführung der Gerste in Malz, die ja hauptsächlich weiter nichts ist als die Produktion einer genügend großen

Menge von Enzymen, kommt nach Ansicht des Verfassers in erster Linie Schwefelsäure in Betracht, die durch Oxydation des Eiweißschwefels beim Mälzungsprozeß entsteht. Da man nun wohl annehmen kann, daß die Menge des vorhandenen Schwefels der vorhandenen Eiweißmenge entspricht, so ist ein Malz um so enzymatischer, je eiweißreicher die Gerste ist. Möglicherweise ist der geringe Gehalt an eigentlichem, also schwefelhaltigem Eiweiß auch die Ursache der in manchen Jahren auftretenden Erscheinungen mangelhaften Lösungsvermögens und schlechter Gärungserscheinungen. Solche Gersten sind dann als schlechte Brauware zu bezeichnen. Wie bereits bemerkt, oxydiert sich der Schwefel des Eiweißes zu Schwefelsäure, die natürlich ihrerseits nicht als solche fortbesteht, sondern mit den Salzen des Gerstenkornes Verbindungen und Umsetzungen eingeht. Diese Fragen harren noch der endgültigen Klärung; man erkennt jedoch schon auf Grund der bisher vorliegenden Erkenntnisse, daß es nicht genügt, sich nur mit dem Gesamteiweiß zu beschäftigen, daß man sich vielmehr bemühen muß, den Gehalt der Gersten und Malze an physiologischem Reserveeiweiß zu bestimmen und dieses in seine Komponenten zu zerlegen. Zur Lösung aller vom Verfasser angeschnittenen Fragen bedarf es einträchtiger und zielbewußter Arbeit aller Kräfte. R. Heuß.

Schönfeld, F. und Krumhaar, H. Die maltatische Spaltkraft der Hefen, in Abhängigkeit von Rasseneigenart und Ernährung. Wochenschr. f. Brauerei **34**, 1917, S. 149.

Verwendungszweck und Rassenart müssen aufeinander eingestellt werden, wenn der Erfolg nicht ausbleiben soll. Zur Bereitung obergäriger Lagerbiere eignet sich zum Beispiel nicht die gewöhnlich rasch vergärende, schnell auftreibende Süßbierhefe, da diese nicht fähig ist, den Anforderungen in bezug auf Gärwirkung zu entsprechen. Die Hefe ändert sich nicht ohne weiteres in ihren Eigenschaften, sondern behält sie manchmal hartnäckig bei; der Süßbierhefe kommt ausgesprochene schwache Vergärung und geringe Maltosespaltkraft zu. Hochvergärend und zur Herstellung obergäriger Lagerbiere geeignet sind Hefen, die zu diesem Zweck im Betrieb schon seit Jahren verwendet werden. Derartige Hefen zeichnen sich auch, wie Versuche der Verfasser erkennen ließen, durch starke maltatische Spaltkraft aus, die sie auch bei Verpflanzung in einen andern Betrieb nicht verlieren. Äußere Einflüsse können auf die Eigenschaften einer Hefe in bedeutendem Maße einwirken. Verfasser verweisen auf das Beispiel einer Hefe K, die sich im Lauf der Zeit aus einer stark vergärenden Hefe zu einer solchen von höchstens mittlerer Vergärung verwandelte. Durch geeignete Betriebsmaßnahmen, insbesondere Verpflanzung in geeignete Würze kann sie zu hoher Gärleistung angetrieben werden. Verfasser erreichten eine Erhöhung der Vergärung in diesem Fall insbesondere dadurch, daß beim Aufmaischen die Temperatur

von 60—61° C längere Zeit eingehalten wurde, um eine möglichst hohe Zuckerbildung zu erreichen. Der bei der Bottichgärung erzielte Erfolg fand Bestätigung bei der Prüfung im Laboratorium in der Höhe der Maltosespaltkraft. — Neben der Rasse hat die Zusammensetzung der Würze einen der wesentlichsten Einflüsse auf die Höhe der Vergärung. Maßgebend ist dabei sowohl der Gehalt und die Art der Eiweißstoffe, als auch das Verhältnis zwischen Zucker und Dextrin neben dem Gehalt und der Art von Mineralstoffen. Bei nicht genügender oder ungeeigneter Ernährung leidet auch die Maltosespaltkraft der Hefe und führt zu Gärträgheit. Diese in der Praxis oft beobachtete Erscheinung wird man erfolgreich dadurch verhüten bezw. beseitigen können, wenn man bei der Herstellung der Würze vor allem auf Bildung möglichst großer Mengen von Zucker bei niedrigem Eiweißgehalt — unter Verwendung von gut gelöstem, eiweißarmem Malz — hinarbeitet.

R. Heuß.

Windisch, W. Über die Kellerarbeit bei der Herstellung von schwachen und ganz schwachen Bieren. Wochenschr. f. Brauerei **34**, 1917.

Verfasser weist darauf hin, daß es schon jetzt einwandfrei feststeht, daß wir in der Lage sind, untergärige 3proz. Biere von guter Beschaffenheit herzustellen. Die Kellerarbeit muß zur obersten Richtschnur nehmen: genügend hohe Vergärung und reichliche Kohlensäureansammlung im Bier. Die Gewinnung von Saathefe spielt eine besondere Rolle. Wo nur die ganz leichten Biere gebraut werden, müssen beispielsweise zur Gewinnung von Anstellhefe stärkere, etwa 6proz. Biere gebraut, diese auf dem Bottich möglichst hoch vergoren und beim Schlauchen mit dünnerem Kräusenbier verschnitten werden. Da die Hefen aus den schwächeren Würzen schon an sich nicht besonders lebenskräftig sind, darf man mit dem Waschen nicht zu weit gehen. Teilweise stellt man zur Ausschaltung der auf den Markt gekommenen, teilweise recht üblen „Bierersatze“ auch $1^1/_2$—1proz. Biere her, am besten wohl durch Verschneiden stärkerer Sude mit Hopfenwasser und Karbonisieren des Gemisches beim Abfüllen. Das Gemisch wird zweckmäßig längere Zeit gelagert, bis sich die beim Mischen entstandene Gerbstoff-Eiweißverbindung abgesetzt hat. Farbe kann man durch Mitverwendung von etwas Farbmalz oder Couleur nach Wunsch erzielen.

R. Heuß.

Schönfeld, F. und Krumhaar, H. Die verschiedene Maltosespaltkraft der Hefen. Wochenschr. f. Brauerei **34**, 1917, S. 157.

In den Bierwürzen findet die Zymase gewissermaßen mundgerechten Zucker von vornherein nur in geringen Mengen vor. Sie kann ohne vorhergehende Hilfe anderer Enzyme nur Monosen, nicht aber Invertzucker und Maltose spalten. Die Hefenarten sind an Zymase nicht gleich reich. Hefen aus Münchener Brauereien geben nach Buchner sehr zymasereiche Säfte,

obwohl sie schwachvergärender Art sind. Dies liegt wohl daran, daß sie infolge des großen Gehaltes an Eiweiß der aus langgewachsenen Malzen hergestellten Würzen selbst sehr eiweiß- und demzufolge auch enzymreich sind. Trotz des hohen Gehaltes an Zymase vergären diese Hefen den Zucker in der Würze nur sehr unvollkommen und lassen am Ende der Hauptgärung erhebliche Mengen Maltose unzersetzt: der Betätigung der Zymase stellen sich also offenbar gewisse Umstände hindernd in den Weg. Das Wirken der Zymase ist eng mit dem der Maltase verbunden. Die Frage ist nun die, ob Hemmungen, die auf eines der beiden Enzyme wirken, gleichzeitig und in gleichem Maße auch auf das andere wirken. Durch gewaltsame Eingriffe in die Hefezelle ist es möglich gemacht, die Zymase mit ihrer Tätigkeit völlig auszuschalten; dadurch ist es möglich, die Maltase in ihrer Energieentwicklung zu studieren und die einzelnen Hefen auf die Stärke ihrer Spaltfähigkeit zu untersuchen. Verfasser haben unter Berücksichtigung bezw. Ausschaltung aller in Frage kommenden Faktoren eine Reihe von Hefen untersucht. Eine als besonders gärungsenergisch bekannte Hefe, die Hefe U, war am maltasestärksten und am kräftigsten, in letzter Reihe stand die obergärige Süßbierhefe. Eine andere der untersuchten Hefen war von Hause aus mit starker Maltosespaltkraft ausgestattet, gärte jedoch nur sehr schwach, sie hat sich durch die besonderen Verhältnisse im Betrieb diese Gärtätigkeit angewöhnt. Die Versuche ließen erkennen, daß der Gärverlauf im praktischen Betrieb stark von der Anlage der Hefenrasse in ihrer Maltosespaltkraft abhängt. Ist diese in ausreichendem Maße vorhanden, so ist die Möglichkeit hoher Vergärung gegeben, wo diese fehlt oder infolge von Entartung gesunken ist, wird als Folge davon schwache Vergärung auftreten.

R. Heuß.

Schönfeld, F. und Krumhaar, A. Die verschiedene Maltosespaltkraft der Hefen. Experimenteller Teil. Wochenschr. f. Brauerei **34**, 1917, S. 165.

Für die Untersuchungen der Verfasser kam es vor allem darauf an, die Wirksamkeit der Zymase auszuschalten, um diejenige der Maltase richtig würdigen zu können. Dies geschah durch Zugabe von Toluol und zwar bedurfte es einer Menge von 8 Vol.-Prozent, bis alle Gärung unterdrückt war. Dabei zeigte sich, daß die Zymase verschiedener Hefen bei allmählichem Toluolzusatz in verschiedenem Maße geschädigt wurde. So wurde beispielsweise die schwächer vergärende M-Hefe dadurch weniger in Mitleidenschaft gezogen, als die gärkräftige U-Hefe. Verfasser gehen auf die Beantwortung der Frage nach den Ursachen dieser zunächst nicht zu erwartenden Erscheinung vorläufig nicht näher ein, sondern geben zunächst den Gang der Untersuchung bei der Bestimmung der Maltosespaltkraft von Hefen bekannt.

R. Heuß.

Schönfeld, F. und Goslich, Chr. Die Hefe in den leichten Würzen. Wochenschr. f. Brauerei **34**, 1917, S. 173.

1. Vermehrung. Wenn Würzen an Extraktstoffen immer ärmer werden, dann ist anzunehmen, daß mit zunehmender Verminderung der der Assimilation zugänglichen Nährwerte die Fortpflanzung eine mehr oder minder belangreiche Beeinträchtigung erfahren muß. Diese Wechselbeziehung konnte bei der Herabsetzung des Stammwürzegehaltes von 11 auf 7% ziemlich augenfällig beobachtet werden. Die Ernte an Hefe nahm auffällig ab, die Abnahme war aber doch nicht derartig, daß Besorgnisse wegen der Unzulänglichkeit der Hefenernte gerechtfertigt erschienen, man erhielt noch immer genügende Mengen von Saathefe. Über die Vermehrung von Hefe können verschiedene Methoden Aufschluß geben. Man kann z. B. die Aussaat durch Bestimmung nach Maß und Gewicht ermitteln und sie in Einklang mit den in gleicher Weise festgestellten Erntemengen bringen. Außerdem läßt sich die Vermehrung durch Bestimmung der Zellenzahl, die in einem bestimmten Raumteil unmittelbar nach dem Anstellen und im Zustand der Hochkräusen vorhanden ist, feststellen. Verfasser erhielten bei Versuchen mit der Zählmethode in 7proz. Bieren eine 3 bis 3,7fache Vermehrung auf Grund der Wägung der abgepreßten Aussaat und Ernte eine 2,7 bis 2,8fache. Gegenüber den stärkeren Würzen der früheren Jahre stellte man eine Minderung an Hefe um ein Drittel fest.

2. Bewegung der Gärung und Hefezellen. Mit der Abnahme des Gehalts an Zucker wird zugleich auch die Gelegenheit für die Energiebetätigung der Hefe schlechter, der Auftrieb läßt nach. Dies gilt auch für die 7proz. Biere, indes ist hier der Zuckergehalt noch ausreichend genug, um der Hefe als so kräftige Energiequelle zu dienen, daß sie befähigt wird aufzutreiben. Die Energiebetätigung und die Auftriebskraft ist jedoch naturgemäß nicht so stark und nicht so anhaltend wie bei stärkeren Würzen, das Gärungsbild wird durch den geringeren Gehalt an wichtigen Nährstoffen schon wesentlich anders. Die Hefe setzt sich früher ab und bietet dem Bier nicht dieselbe Schutzkraft wie sonst. Diesen Mangel muß man durch ausreichende Gegenmittel auszugleichen suchen, es sind das: starke Hefengabe, kräftige Lüftung und hohe Vergärung in Gemeinsamkeit mit stärkster Hopfung der Würze. R. Heuß.

Schönfeld, F. und Krumhaar, H. Maltatische Spaltkraft der Hefen im Bier, gebunden an die Gegenwart von Sauerstoff. Wochenschr. f. Brauerei **34**, 1917, S. 189.

Aus den vorhergehenden Mitteilungen der Verfasser ging schon deutlich hervor, daß die den verschiedenen Heferassen oder Stämmen innewohnende Spaltkraft der Maltase in reiner Maltoselösung und in durch peinliche Filtration hefenfrei gemachtem, zum Teil mit Hefe pasteurisiertem Bier, wobei

so viel Maltose zugegeben wurde, bis der Prozentgehalt davon dem der wässerigen Lösung entsprach, verschieden ist. Versuche zeigten, daß die Gegenwart von Sauerstoff auf die Tätigkeit der Maltase von ganz besonderem Einfluß ist. Aus den Versuchen sind auch interessante Schlüsse auf die Vorgänge im Lagerfaß zu ziehen. Zur Durchführung einer richtigen Nachgärung ist jedenfalls die Anwesenheit einer ausreichenden Menge von Sauerstoff neben anderen Faktoren sehr wesentlich. Dieser wird beim Einschlauchen des Bottichbieres zugeführt, auch andere Mittel, wie Spänen, mehrmaliges Überschlauchen und Käppelnlassen wirken ebenso.

R. Heuß.

Schönfeld, F. und Goslich, Chr. Die Hefe in dünnen Würzen (Wachstum und Gärführung). Wochenschr. f. Brauerei **34**, 1917, S. 205.

Bei 11prozentigen Würzen gab man durchschnittlich auf 1 hl etwa 0,5 l, entsprechend 0,26 kg gepreßter Hefe. Diese Hefengabe wurde an der Berliner Hochschulbrauerei auch bei 7proz. Würzen mit Erfolg beibehalten, ebenso anfänglich bei 6proz. Bei diesen Würzen ging man dann später auf 0,33 l, entsprechend 0,13 kg gepreßter Hefe zurück, da die stärkere Hefengabe die Wachstumsperiode derartig beschleunigte und die Biere auf dem Bottich so schnell reif wurden, daß es nicht immer möglich war, sie rechtzeitig und in dem erwünschten Zustand zu schlauchen. Diese Gabe behielt man mit Erfolg bei, die Hopfenmenge betrug 2 Pfund auf den Zentner Malz. Das Gärungsbild war befriedigend, man beobachtete gute Bruchbildung, sowie gutes und festes Absitzen der Hefe. Die gleiche Hefengabe hat sich auch für 3proz. Würzen bewährt, ebenso für 6proz. Würzen bei Verwendung von Oberhefe. Neben der Auswahl geeigneter Stellhefengabe ist auch die Wahl geeigneter Anstell- und Gärtemperatur und kräftiger Lüftung notwendige Voraussetzung für einen den Verhältnissen entsprechenden Gärungsverlauf. Bei einer Gärkellertemperatur von 5—6° C ist bei Benutzung untergäriger Hefe eine Anstelltemperatur von 10° C und bei obergäriger Hefe eine solche von 15° C. sehr passend. Weiter erforderlich ist auch eine Vorbehandlung der Hefe durch Vorstellen in starker Würze, die zweckmäßigerweise auf 10 bis 12% Balling eingestellt wird. Diese Vorbehandlung muß mehrere Stunden dauern, um die Hefe ausgiebig zum Sprossen und zur Aufnahme von Nährstoffen anzuregen. So geführte Gärungen lieferten Hefenernten, deren Erträge immer wieder ausreichten, um gleiche Mengen frischer Würze eines folgenden Sudes anzustellen. Bei den 6proz. Würzen beobachtete man eine Vermehrung um das drei- bis vierfache, bei den 3proz. um das andert-halb- bis zweifache der Aussaat. Der Ausfall der Hefenernte sinkt mit dem Fallen des Extraktgehaltes. Bei den 3proz. Würzen gelangt sie schon auf einen bedenklichen Tiefstand. In 11proz. Würze betrug die Hefenernte 1,1 kg gepreßter Hefe, bezogen auf 1 hl Bier, in 6proz. 0,5 kg und in 3proz.

0,2 kg. Eine Entartung der Hefe konnte bisher in den 6proz. Würzen nicht bemerkt werden; diese wird sich auch wohl bei entsprechender Behandlung vermeiden lassen. Bei 3proz. Würzen wird jedoch mit einer Entartung wohl gerechnet werden müssen, man wird daher mit Hilfe der Reinzucht rechtzeitig für Ersatz der unbrauchbar gewordenen Hefe sorgen müssen.

R. Heuß.

Windisch, K. Die Bierbereitung im Krieg (Dünnbier und Ersatzgetränke). Wochenschr. f. Brauerei **34**, 1917, S. 213 und 224.

Unter dem Einfluß des Krieges ging die den Brauereien zur Verfügung stehende Gersten- bezw. Malzmenge stetig zurück. Da der Bierbedarf, namentlich für die Feldtruppen, dauernd ein großer war, blieb zur Streckung der kleinen Malzvorräte nichts anderes übrig, als die Stammwürze des Bieres entsprechend herabzusetzen, eine Maßnahme, zu der auch die verschiedenen Generalkommandos durch entsprechende Verordnungen Stellung genommen haben. Neben dem so entstehenden Dünnbier kamen aber auch sogenannte Bierersatzgetränke auf, denen Verfasser gleichfalls einige Betrachtungen widmet. Bezüglich der Herstellung von Dünnbier geht Windisch zunächst von dem durch den technischen Beirat des Deutschen Brauerbundes über die Herstellung leichterer Biere ausgearbeiteten Merkblatt aus und bespricht sodann eingehend die Arbeit im Sudhaus und die Bottich- und Lagergärung. Besonderes Augenmerk ist bei der Herstellung derartig leichter Biere der Hefegewinnung zu schenken. Was die Herstellung von Ersatzgetränken betrifft, so verwirft Verfasser die reinen Kunstprodukte ohne Verwendung von Malz. Lieber — namentlich mit Rücksicht auf die nach dem Kriege zu erwartende Konkurrenz — wäre es ihm, wenn die Herstellung eines wenn auch noch so dünnen Bieres aus Malz und Hopfen ohne künstliche Zusätze in die Wege geleitet würde, um der allzu großen Vermehrung dieser Kunstprodukte einigermaßen zu steuern.

R. Heuß.

Heintz, L. Über die künstliche Würzekühlung im geschlossenen Kühlschiff und die Entfernung des Glutens. Wochenschr. f. Brauerei **34**, 1917, S. 221 u. 229.

Die Veranlassung und Grundlage zu den Untersuchungen über die künstliche Würzekühlung im geschlossenen Kühlschiff und die Entfernung des Glutens bildete in der Hauptsache die bekannte klärende Eigenschaft des Tannins. Die praktische Ausführung der Würzekühlung mußte allerdings infolge des Krieges vorläufig aufgeschoben werden, doch teilt Verfasser die Ergebnisse zahlreicher Laboratoriumsuntersuchungen und die daraus für die Praxis hervorgehenden Nutzanwendungen unter Bezugnahme auf die Arbeiten anderer Forscher auf diesem Gebiet wie Brown, Hayduck, Emslander usw. ausführlich mit. Brown kam bei seinen Studien, die Gerbstoff-

eiweißverbindungen oder das „Gluten" zum Ausflocken zu bringen und dadurch aus der Würze zu entfernen, im wesentlichen zu dem Schluß, daß die mechanische Bewegung einer Würze während der Kühlung zur Erlangung eines guten Bruches wesentlich ist. Die Versuche bezogen sich allerdings auf die viel stärkeren englischen Würzen, sie treffen für deutsche Verhältnisse nicht ohne weiteres zu. Ebenfalls auf englische Verhältnisse bezieht sich ein im Jahre 1914 veröffentlichtes, verbessertes Brauverfahren von Ling und Wooldrige, bei dem die Abkühlung der Würze unter vermindertem Druck erfolgt. Verfasser kommt zu dem Ergebnis, daß unsere deutschen Würzen zur Klärung außer der Bewegung noch eine andere Substanz brauchen, die durch ihr Flockungsvermögen das Gluten mitreißt. Diese Substanz ist der grobe Trub. Von dessen klärender Eigenschaft kann man weitgehenden Gebrauch machen, indem die Würze unter Bewegung mit diesem Trub zusammen bis auf Anstelltemperatur oder darunter abgekühlt wird mit nachfolgendem Absetzen. Diese Abkühlung kann steril im Kühlschiff durchgeführt werden, braucht wenig Aufsicht. die Berieselungsapparate fallen fort, (sind ev. im Kühlschiff zu verwenden); hierdurch, wie durch die Verkleinerung des Kühlschiffs, wird Raum gespart; die in der Würze aufgespeicherte Wärmemenge wird fast ganz wiedergewonnen. Dem stehen die Kosten der Anlage (Leitungen, Kühlsysteme, größere Trubfilter), Mehrarbeit zum Reinigen des Schiffs, Kraftverbrauch gegenüber. Die Sudhausausbeute wird, da nur sehr wenig im Kühlschiff verdampft — man also weniger Würze zum Kochen in die Bierpfanne laufen lassen kann — vielleicht etwas geringer werden, dieser Verlust kommt aber bei modernen Maischefilteranlagen überhaupt nicht in Betracht. R. Heuß.

Bokorny, Th. Notizen über Hefevermehrung. Wochenschr. f. Brauerei **34**, 1917, S. 269.

I. Verschiedene Kohlenstoffquellen. Für die Brauchbarkeit der verschiedenen Kohlehydrate zur Ernährung von Hefe ist die Art der Hefe von großer Bedeutung. Verschiedene Rassen verhalten sich verschieden. Soweit bis jetzt bekannt, können von den Hexosen nur drei Aldosen, nämlich d-Glukose, d-Mannose und d-Galaktose und eine Ketose, die d-Fruktose vergoren werden. Von den Biosen ist besonders Rohrzucker und Maltose als gärungsfähig bekannt. Von den Polyosen werden Dextrine durch eine große Anzahl von Hefen angegriffen, allerdings meist von obergärigen oder wilden Arten. Ähnliche Unterschiede wie bei der Vergärung zeigen sich auch bei der Assimilation der Zuckerarten, ohne daß jedoch beide Vorgänge parallel zu gehen brauchen. Verallgemeinerungen sind daher nicht zulässig, wie Verfasser an Formaldehyd, Methylalkohol usw. zeigt.

II. Reizstoffe. Alle Giftstoffe dürften bei einer gewissen geringeren, aber bei den einzelnen verschiedenen Konzentration fördernd auf das Wachs-

tum wirken. Bei Versuchen über die Beeinflussung der Vermehrung ist es wichtig, das günstigste Mengenverhältnis zwischen Hefe und Zucker zu finden, bei dem die größte Vermehrung der Trockensubstanz erfolgt. Die Art des Zuckers ist wichtig, ebenso die Temperatur und die Beschaffenheit der Stickstoffquelle. Bei der Herstellung der Dünnbiere in der untergärigen Brauerei gestaltet sich die Hefevermehrung sehr ungünstig. Die Ursache liegt nicht nur in der geringen Malzmenge, es kommt vielmehr wesentlich auf das Verhältnis „Aussaathefe zu Zuckermenge“ an. Genaue Untersuchungen darüber wären für die Bierbrauerei gegenwärtig von großer Bedeutung.

R. Heuß.

Windisch, W. Dünnbier gegen „Bierersatz“. Wochenschr. f. Brauerei **34**, 1917, S. 285.

Verfasser war von Anfang an ein Gegner der sogenannten Bierersatzgetränke und ein Verfechter der Herstellung leichterer Biere neben höherprozentigen Spezialbieren, schon lange ehe die jetzige Malznot kam. Die Verhältnisse haben ihm recht gegeben mit der Einschränkung, daß wir heute die damals ins Auge gefaßten höherprozentigen Biere nicht mehr brauen können, dafür aber mit Rezeptenhandel und Ersatzgetränken vielfach schlechte Erfahrungen gemacht haben. Verfasser bespricht zunächst die bisherigen Erfahrungen bei der Herstellung von Einfachbier und weist besonders auf die Schwierigkeiten der Hefegewinnung hin, die mit dem Sinken des Stammwürzegehalts verbunden waren und zwar in besonders ausgeprägtem Maße bei den Betrieben, die keine Heereslieferung haben und deshalb nicht im Besitz von stärkeren Würzen sind. Beim Arbeiten mit Hopfenwasser zum Verschneiden stärkerer Würzen wurden vielfach, namentlich wenn der Betrieb karbonatreiches Wasser hatte, sehr schlechte Erfahrungen gemacht, Grund genug, diese technische Maßnahme wieder abzuschaffen. Wesentliche Bestandteile der zweckmäßigen Arbeitsweise bei der Herstellung von Dünnbier sind nach Windisch Entkarbonisieren des Wassers und Infusionsverfahren im Sudhaus.

R. Heuß.

Windisch, W. Zur Dünnbierfrage. Wochenschr. f. Brauerei **34**, 1917, S. 299 u. 307.

Verfasser hat auf obenstehende Veröffentlichung eine Reihe von Zuschriften erhalten, die sich ohne Ausnahme gegenüber dem Bierersatz auf einen ablehnenden Standpunkt stellen, nachdem sie die entsprechenden Erfahrungen gemacht haben. Bezüglich der Sudhausarbeit schlägt Verfasser das Vormaisch-Eiweißrastverfahren und zwar ein reines Infusionsverfahren vor. Dieses bietet Aussicht auf einfache Arbeitsweise mit Zeit- und Kohlenersparnis, möglichst hohe Ausbeute, hohen Zuckergehalt der Würze, damit hohe Vergärbarkeit und Vergärung, kräftige Ausscheidung der Hopfenharze,

hohen Gehalt der Würze an gerinnbaren und mit Hopfengerbstoff unlösliche Verbindungen eingehenden Eiweißverbindungen, weitgehende Unschädlichmachung des in Überfluß vorhandenen Hopfengerbstoffs, kräftige Ausscheidung der Gerbstoff-Eiweißverbindungen und damit Vermeidung der bisher beklagten Trübungen. Besonders wichtig ist auch, daß man bei der Dünnbierherstellung karbonatarmes Wasser hat. Vielfach wird künstliches Entkarbonisieren in Frage kommen. Windisch deutet an, daß die Ausarbeitung eines Verfahrens zur kalten Entkarbonisierung des Wassers vor dem Abschluß stehe und befaßt sich im weiteren Verlaufe seiner Ausführungen noch mit einer Reihe praktischer Einzelheiten. R. Heuß.

Mansfeld, R. Weitere Vereinfachung des Herführens von Reinzuchthefe in der Kriegszeit. Zeitschr. f. d. ges. Brauwesen **40**, 1917, S. 115.

Das Malzkontingent im Deutschen Reich ist gegenwärtig auf $^1/_5$ der Friedensmenge beschränkt, der Stammwürzegehalt entsprechend herabgesetzt. Schwache Biere setzen aber große Geschmacksreinheit voraus, sie müssen daher in biologischer Hinsicht tadellos beschaffen sein und mit einer untadeligen Anstellhefe vergoren werden. Der Bezug reiner Anstellhefen von fremden Brauereien ist jedoch gegenwärtig äußerst erschwert: die Herabsetzung der Produktion wie auch die Erniedrigung der Stammwürzen läßt viel weniger Hefe übrig als früher, außerdem wird aller Überschuß auf Trockenhefe verarbeitet. Der Brauer wird sich daher zweckmäßig selbst eine reine Anstellhefe durch Herführen verschaffen. Dies geschieht auf einfache Weise mit Hilfe einiger Eimer aus verzinktem Eisenblech mit übergreifendem Deckel und einem Nutzinhalt von 20 l. Die Innenfläche wird mit Kühlschifflack und einige Male mit Hefe oder Geläger eingestrichen, damit sich Bierstein absetzt und kein Zink löst. 8 derartige Eimer genügen zum Herführen einer von einer Station bezogenen Reinzuchthefe und zum Anstellen von 12—14 hl Bottichwürze. R. Heuß.

Fries, G. Über Dünnbier. Mitteilungen d. wissenschaftlichen Station f. Brauerei in München. Zeitschr. f. d. ges. Brauwesen **40**, 1917, S. 185 u. 193.

Zur Sicherstellung des Bierbedarfs von Heer und Bevölkerung wurde vom Generalkommando bestimmt, daß Vollbier nur mehr mit einem Stammwürzegehalt von 6% und Dünnbier mit einem solchen von 3,5—4% hergestellt werden darf. Dünnbier, sonst wohl auch Nachbier oder Scheps genannt, ist durch die oben angeführte Verordnung des Generalkommandos jetzt in den Vordergrund des Interesses gerückt, es muß zur Befriedigung des Publikums in entsprechender Qualität hergestellt werden. Verfasser gibt in seinen Ausführungen seine Erfahrungen über die Bereitung von Dünnbier wieder, die teils auf eigener Praxis, teils auf Beobachtungen in verschiedenen Betrieben beruhen. R. Heuß.

Fries, G. Über Bierersatzgetränke. Mitteilungen d. wissenschaftl. Station f. Brauerei in München. Zeitschr. f. d. ges. Brauwesen **40**, 1917, S. 202.

Die zunehmende Knappheit an Bier brachte es mit sich, daß seit einiger Zeit Vorschriften zur Herstellung von Bierersatzgetränken in erhöhtem Maße in der Fachpresse auftauchen. Sie können eingeteilt werden in solche mit Limonadencharakter und solche mit Biercharakter. Biercharakter können nur jene Ersatzgetränke zeigen, die tatsächlich aus Malz und Hopfen hergestellt sind und eine Hefegärung durchgemacht haben. Die Stammwürze der vom Verfasser untersuchten Getränke schwankte außerordentlich, oft lag sie unter $1^0/_0$. Entsprechend verschieden waren natürlich auch die Werte für Extrakt und Alkohol. Zwei Fabrikate waren trüb, bei einem war die Trübung durch wilde Hefen veranlaßt, die dem Getränk einen unreinen und unangenehmen Geschmack verliehen. Sonst war der Geschmack im allgemeinen befriedigend, namentlich wenn die Getränke ohne Saccharin hergestellt waren. Mousseux und Schaumhaltigkeit waren fast durchweg gut, wichtig ist die richtige Karbonisierung derartiger Getränke. Im allgemeinen munden sie nur dann, wenn sie frisch ausgeschenkt werden. Die Haltbarkeit der untersuchten Proben war — namentlich bei starker Hopfengabe — befriedigend.

R. Heuß.

Will, H. Das mikroskopische Bild der Hefen von Kriegsbieren und die Schlußfolgerungen aus jenem. Mitteilungen d. wissenschaftl. Station f. Brauerei in München. Zeitschr. f. d. ges. Brauwesen **40**, 1917, S. 209 u. 217.

Die Herstellung von Dünnbier dreht sich im wesentlichen um die Frage der Möglichkeit der Erhaltung von Hefe. Verfasser stellte mit Hilfe des Mikroskops den Ernährungszustand der Hefenzellen in 6- und höherprozentigen Würzen, sowie in Dünnbierwürzen fest. Es leitete ihn dabei die Überzeugung, daß die mikroskopische Untersuchung über die Ursache der Abnahme der Vermehrung in geringprozentigen Würzen und die Notwendigkeit einer öfteren Stärkung in hochprozentigen ein übersichtlicheres und überzeugenderes Bild gebe, als alle theoretischen Erwägungen. Das mikroskopische Bild der Hefenzellen in geringprozentigen Würzen erscheint gegenüber dem von Hefen aus hochprozentigen wesentlich geändert: der Ernährungszustand, der in dem Aussehen der Zellen deutlich zum Ausdruck kommt, hat sich verschlechtert; er steht im innigsten Zusammenhang mit der Minderung einer völlig befriedigenden Ernährungsmöglichkeit der schwächeren Würzen. Die Untersuchungen zeigten, daß die Hefen aus 6prozentigen Würzen, besonders aber die aus Dünnbierwürzen, zwischendurch einmal durch Führung in hochprozentigen gekräftigt werden. Für letztere ist dies eine zwingende Notwendigkeit, eine fortgesetzte Führung der Hefe nur in Dünnbierwürze erscheint ausgeschlossen, da sie deren gründliche Schädigung zur Folge hätte. Vielfach wurde befürchtet, daß infolge der Herabsetzung des Stammwürze-

gehalts und der damit verbundenen schlechteren Ernährung die bewährten untergärigen Bierhefen renommierter Betriebe allmählich ihre oft in weiten Kreisen geschätzten guten Eigenschaften verlieren und schließlich ganz ausfallen könnten. Diese Befürchtung ist übertrieben und unbegründet. Wo es sich um Reinzuchten handelt, wird — oder sollte sich wenigstens — im Besitz der Brauerei eine Konserve der fraglichen Stämme befinden. Ist die Reinzucht von einer Station bezogen, dann wird sich dort eine Konserve befinden, von der aus der Stamm jederzeit vermehrt werden kann. Im ungünstigsten Falle lasse man von berufener Seite sofort eine Konserve der beliebten Hefenstämme anfertigen; die zur Verfügung stehenden Konservierungsverfahren verbürgen jahrelange Haltbarkeit, so daß der Stamm jederzeit zur Verfügung steht. R. Heuß.

Will, H. Einige Beobachtungen über den Einfluß von Schüttelbewegung auf die Haltbarkeit des Bieres in biologischer Hinsicht. Mitteilungen d. wissenschaftl. Station f. Brauerei in München. Zeitschr. f. d. ges. Brauwesen **40**, 1917, S. 249.

Über den Einfluß von Schüttelbewegung auf die Haltbarkeit des Bieres in biologischer Hinsicht liegen Mitteilungen in der Fachliteratur im allgemeinen nicht vor. obwohl ein ungünstiger Einfluß von vornherein nicht nur nicht ausgeschlossen, sondern sehr wahrscheinlich ist. Verfasser hat in dieser Richtung Versuche angestellt, die allerdings noch nicht beendigt sind, aber jetzt schon mit aller Deutlichkeit erkennen ließen, daß Schüttelbewegung unter bestimmten Verhältnissen die Haltbarkeit in biologischer Hinsicht wesentlich beeinträchtigen kann.

R. Heuß.

Bericht über die 41. ordentliche Generalversammlung der wissenschaftlichen Station f. Brauerei in München. Zeitschr. f. d. ges. Brauwesen **41**, 1917, S. 361.

Technische Mitteilungen und technisch-wissenschaftliche Arbeiten: 1. Beobachtungen aus der Praxis. Von G. Fries. In bezug auf den biologischen Reinheitsgrad waren die Ergebnisse der Kontrollproben fast durchweg zufriedenstellend, die Haltbarkeit der Biere war im allgemeinen recht gut. Die Absatzbildung der Dünnbiere erfolgte in der Regel früher als bei normalen Bieren, hielt sich jedoch meist in sehr mäßigen Grenzen. Nur gespänte Biere setzten reichlicher ab als filtrierte. Auftretende Trübung war meist vorübergehend und in der Regel durch wilde Hefe verursacht, die Gegenwart von Sarcina wurde seltener festgestellt. Schon früher wurde auf die Infektionsgefahr durch moderne Gegendruckabfüllapparate hingewiesen. Diese kann ganz wesentlich verringert werden durch Ableiten des Überlaufbieres und Filtrieren der Rückluft, sowie durch sorgfältige und

entsprechend häufige gründliche Reinigung der gesamten Abfüllanlage. — Die Ausbeuteresultate waren trotz der oft niederen Treberschicht meist gut. — Die Frage der Wiedergewinnung und Verwendung der im Faßgeläger enthaltenen Hefe gewinnt bei der gegenwärtigen Hefeknappheit besondere Bedeutung. Bei sachgemäßer Reinigung des Gelägers fällt schöne weiße Hefe an, die bei Verschneiden mit anderem gutem Zeug und nach Herführung in Vorderwürze wohl verwendbar erscheint.

2. Dünnbier und Bierersatzgetränke. Von G. Fries. Ergänzend zu den schon früher veröffentlichten Erfahrungen sei hier nur erwähnt, daß sich bei Bereitung von Dünnbier ein besonderes Einmaischverfahren gut bewährt hat. Die Hefe wird bei Herstellung von Dünnbier zweckmäßig in Vorderwürze hergeführt, wobei auf häufiges und kräftiges Aufziehen besonders zu achten ist. Die Gärführung ist nach Möglichkeit der bei Herstellung von normalen Bieren angewendeten zu nähern. — Die untersuchten Bierersatzgetränke befriedigten hinsichtlich Geschmack, Schaumhaltigkeit und Mousseux in der Regel. Einer befreundeten Brauerei gelang es mit Erfolg, ein Bierersatzgetränk, das allen Anforderungen entsprach, ohne Karbonisieren herzustellen, ein in Anbetracht der Knappheit an Kohlensäure bemerkenswerter Fortschritt.

3. Das mikroskopische Bild der Hefen von Kriegsbieren und die Schlußfolgerungen aus jenem. Von H. Will. Zur Untersuchung des Ernährungszustandes der Hefe in 6- und höherprozentigen Würzen schien die mikroskopische Prüfung besonders geeignet. Man untersuchte Satzhefe und Absatz aus Jungbier sowohl in 6proz., wie auch in Dünnbierwürzen. Man fand, daß bei einem Extraktgehalt der Würze von 6% die Grenze gezogen ist, bei welcher noch andauernd auf Gewinnung einer einigermaßen befriedigenden Hefe gerechnet werden kann. Die ausschließliche Vermehrung von Hefe in Dünnbierwürze hat deren gründliche Schädigung zur Folge. Die Erhaltung wertvoller Hefenstämme auch über die gegenwärtige schwierige Zeit hinaus ist durch geeignete Konservierungsverfahren gesichert.

4. Über das Verhalten der Bitterstoffe des Hopfens. Von W. Wöllner. Die Träger der antiseptischen und bittermachenden Kraft des Hopfens sind die Harze und zwar besonders das Humulon und Lupulon. Nach Wöllmers Untersuchungen ist der Hauptträger des bitteren Geschmacks das Humulon.

5. Vergleichende Versuche über Gersten- und Malzextraktausbeuten. Von G. Fries. Da die vorhandenen Methoden zur Bestimmung der Gersten- und Malzextraktausbeuten meist keine befriedigenden Werte haben, arbeitete man selbst eine passende Methode aus.

6. Über die Mälzung mit Kohlensäure-Rast. Von G. Fries.

7. Ein neues Würzekochverfahren. Von G. Fries. Das Verfahren bezweckt die Gewinnung einer Würze und damit eines Bieres, das

möglichst reich an kolloidalen Substanzen von entsprechendem Dispersitätsgrad ist. Dadurch erhält man Biere, deren wesentliches Kennzeichen besondere Vollmundigkeit ist, wodurch sie stärker erscheinen, als sie in Wirklichkeit sind.

8. Einfluß von Schüttelbewegung auf die Haltbarkeit des Bieres in biologischer Hinsicht. Von H. Will. Schon frühere Versuche ließen erkennen, daß durch Schüttelbewegung unter Umständen die Haltbarkeit eines Bieres verschlechtert werden kann. Auch bei den neuen Versuchen gewann man wieder den Eindruck, daß bei minder gut haltbaren, also mehr oder weniger mit Bierschädlingen durchsetzten Bieren je nach Art und Stärke der Infektion sowie der Temperatur während der Schüttelbewegung die Haltbarkeit mehr oder weniger herabgesetzt wird.

9. Kriegspeche und deren Rohmaterialien. Von G. Fries. Neben regenerierten Auslaufpechen trifft man in der Kriegszeit noch eine zweite Gruppe von Pechen, die sich auf bituminösen Materialien aufbauen. Die erste Gruppe stellt einen vollwertigen Ersatz der Friedenspeche dar, bei der zweiten Gruppe stört noch in vielen Fällen die hohe Viskosität.

10. Einwirkung verschiedener Desinfektionsmittel auf Metalle. Von H. Will u. F. O. Landblom. In Anlehnung an Versuche von Zikes über die Wirksamkeit des Antiformins gegenüber Metallen und solchen von Heuß über Radaform haben Will und Landtblom die Einwirkung von 1-, 2- und 5prozentigen Lösungen von Flußsäure, Flammon, Montanin und Formalin bei 2—3tägiger Versuchsdauer auf Eisen und Stahl, Kupfer, Zinn, Zink, Aluminium und Messing geprüft und die Einwirkung durch Feststellung der Gewichtsabnahme der Versuchsstücke festgestellt. Formalin in verdünnter Lösung zeigte keinerlei Einwirkung, in unverdünnter (40proz.) Lösung befördert es bei Eisen und Stahl infolge eines Gehalts von 0,4% Ameisensäure die Rostbildung. Eisen und Stahl, sowie auch Aluminium und Zink zeigten sich mehr oder weniger empfindlich gegenüber allen Desinfektionsmitteln, Kupfer, Zinn und Messing dagegen wurden äußerlich sichtbar in keinem Fall angegriffen.

11. Prüfung eines Kriegsfilters mit eisernen lackierten Schalen auf Brauchbarkeit. Von G. Fries. Das frühere Material, aus dem die Schalen für Bierfilter angefertigt wurden, ist nicht mehr zu beschaffen, so daß sich eine Fabrik entschloß, als Kriegsfilter einen Apparat mit eisernen, mit einem Lack überzogenen Schalen herauszubringen. Es handelte sich nun darum, die Widerstandsfähigkeit dieses Lackes gegenüber Bier bezw. 4proz. Alkohol zu prüfen. Die Prüfung fiel negativ aus, der Lack wurde weiß, ließ Rostflecken aufkommen und konnte nicht verhindern, daß das Bier starken Lack- und Eisengeschmack annahm.

Wissenschaftliche Arbeiten. 1. Über eine neue Torula-Art, welche in Jungbier Trübung verursacht. Von H. Will. Im letzten

Jahresbericht wurde über diese Torula eine kurze Mitteilung gemacht, die sich wesentlich mit den Erscheinungen beschäftigte, die für die Praxis von Bedeutung sind. Die jetzige Veröffentlichung macht Mitteilung über die diagnostischen Merkmale dieser Art, die hauptsächlich in zwei Hauptgruppen von Zellformen vorkommt: 1. in langgestreckten schlauchartigen und wurstförmigen Zellen in meist weit ausgebreiteten, aber wenig verzweigten Sproßverbänden, die fest zusammenhalten; 2. in gedrungenen Zellformen, die von den Zellen der ersten Gruppe erzeugt werden und sich durch Sprossung fortpflanzen. Neben der Morphologie der Zellen behandelt Will die Wachstumserscheinungen in Nährflüssigkeiten, die Wachstumserscheinungen auf festen Nährböden, die Gelatineverflüssigung, das Verhalten gegen Zucker und Alkohol, sowie die Bildung von Farb- und Geruchstoffen. An Zuckern werden vergoren Dextrose, Laevulose, Galaktose, Saccharose, Laktose und Raffinose, dagegen nicht Maltose.

2. Noch einige Mitteilungen über das Vorkommen von lebens- und vermehrungsfähigen Zellen in alten Kulturen von Sproßpilzen. Von H. Will. Die Frage der Konservierung der Betriebshefen erscheint zurzeit besonders vordringlich. Die Station bewahrt ihre Reinzuchtstämme in 10proz. Saccharoselösung, ferner aber auch in hochprozentiger Würze unter kontinuierlicher Auffrischung bis 15° C auf. Beide Verfahren haben sich bewährt, die Saccharosekonserven halten sich durchschnittlich 5—6 Jahre. Bei der Beobachtung der Lebensdauer von Sproßpilzen in Konserven verschiedenster Art waren bisher im wesentlichen nur ober- und untergärige Bierhefen, Weinhefen und andere wilde Hefen in Betracht gezogen worden. Insbesondere fehlten Beobachtungen über Torulaceen in dieser Hinsicht. Will hat diese Lücke nunmehr durch entsprechende Versuche mit Eutorula var. a—d, Eutorula ellipsoidea, Torula gelatinosa und coriicolor, Mycotorula craterica var. a—c, Mycotorula radioplicata var. a—c ausgefüllt und gefunden, daß auch die Widerstandsfähigkeit der Torulaceen in Saccharoselösung verschieden ist.

3. Die maßanalytische Phosphorsäurebestimmung nach der Methode von B. Pfyl und ihre Anwendung im Brauereilaboratorium. Von W. Wöllmer.

4. Physikalisch-chemische Untersuchungen an Würzen und Bieren. Von W. Wöllmer. Von den neueren Methoden der physikalischen Chemie haben besonders die Bestimmung der Leitfähigkeitstitration und die der Wasserstoffionenkonzentrationen Eingang in das Brauereilaboratorium gefunden. Wöllmer hat zahlreiche derartige Bestimmungen an Würzen und Bieren durchgeführt, wobei besonders die geringe Wasserstoffionenkonzentration der Dünnbierwürzen auffiel, die auch durch die Tätigkeit der Hefe bei der Gärung nicht mehr ausgeglichen werden kann.

5. Bestimmung des Salzgehaltes natürlicher Wässer durch Messung ihrer elektrischen Leitfähigkeit. Von W. Wöllmer.

6. Die polarimetrische Stadientitration der Säure in Würze und Bier. Von W. Wöllmer. R. Heuß.

Koudelka, V. Erfahrungen mit verschiedenen Malzersatzmitteln im Laboratorium und in der Praxis. Allg. Zeitschr. f. Bierbrauerei u. Malzfabrikation **45**, 1917, S. 121 u. 131.

Die bisher in Österreich verwendeten Malzsurrogate kann man in folgende Gruppen einteilen:

A. solche, die der Verarbeitung keine Schwierigkeiten entgegensetzen;

B. solche, die — und zwar in erster Linie infolge von schlechter Abläuterung — sich schwierig bzw. nur in geringem Prozentsatz verarbeiten lassen.

Die Gruppe A kann man sich weiterhin in folgende Untergruppen teilen:

1. Malzsurrogate, die die Qualität des Bieres in keinerlei Hinsicht ungünstig beeinflussen;

2. Malzersatzmittel, die — zumal in größeren Gaben verwendet — die Qualität des Bieres, insbesondere nach geschmacklicher Richtung mehr oder minder stark beeinträchtigen.

In Gruppe A lassen sich einreihen:

Untergruppe 1 Zucker und Mais,

„ 2 Verschiedene Sirupe, Kartoffelstärke und Hirsearten.

In Gruppe B fallen:

Leguminosen, Trockenkartoffeln, Edelkastanien, Topinambur usw.

Verfasser gibt in seiner Veröffentlichung eine kurze Zusammenfassung über die Laboratoriumsuntersuchung aller dieser Malzersatzmittel und deren Ergebnisse, sowie über die wichtigsten Erfahrungen mit denselben in der Praxis. R. Heuß.

Zikes, H. Über die Thesaurierung der Kulturhefe während des Stillstands der Brauereibetriebe. Allg. Zeitschr. f. Bierbrauerei u. Malzfabrikation **45**, 1917, S. 149.

Zu einer Zeit, da sich die Gärungsbetriebe in Tätigkeit befinden, macht die Konservierung der Hefe keine besonderen Schwierigkeiten. Die besonderen Verhältnisse der Kriegszeit werden in Bälde die Schließung der Mehrzahl der Brauereibetriebe nötig machen, wodurch sich die Frage nach der zweckmäßigsten und sichersten Art der Konservierung der Kulturhefe über die Zeit des Stillstandes erhebt. Normalerweise wird die Hefe — auch in der Brauerei und bei der Preßhefefabrikation — einfach unter reinem kaltem Wasser aufbewahrt. Handelte es sich bei Preßhefe um längere Aufbewahrung, so preßte man sie in gut schließende Metallgefäße ein und ließ sie bei möglichst tiefen Temperaturen stehen. Unter den vielfach dabei

verwendeten Konservierungsmitteln spielte besonders Zucker eine Rolle; weiter wurden besonders Gerbsäure, Chloralhydrat und Salizylsäure verwendet. Eine andere Art der Konservierung von Hefe bestand im Austrocknen der Hefe unter Beimischung verschiedener wasseranziehender Substanzen, wie Holzkohle, Knochenkohle usw. Alle diese Arten der Hefenkonservierung haben jedoch den Nachteil, daß sie die Hefe nicht vor Infektion schützen können. Andere Verfahren, wie Aufbewahrung der Hefe in einer Mischung von Glukose und Saccharose, in Glyzerin oder schwachem Alkohol führten zu einer unerwünschten Schwächung derselben infolge von Plasmolyse. Von einer zweckentsprechenden Aufbewahrung der Kulturhefen der Brauereien ist zu verlangen, daß sie widerstandsfähig, rein und physiologisch unverändert erhalten bleiben. Am geeignetsten erscheint dazu die Aufbewahrung der Hefe in 10proz. Saccharoselösung, wie bekanntlich die Reinzuchten an verschiedenen wissenschaftlichen Instituten mit Erfolg aufbewahrt zu werden pflegen. Wesentlich zum Gelingen ist eine zweimalige Überimpfung der aufzubewahrenden Reinzucht in Würze und Einbringen von wenig jugendlichen Zellen im Stadium kräftiger Gärung. Die Aufbewahrung der in mehrfacher Ausführung vorhandenen Konserve geschieht an einem kühlen, dunklen, staubfreien Ort. Zum gewünschten Zeitpunkt erfolgt dann die Überimpfung in Würze in den Reinzuchtapparat und Vermehrung durch Herführen. Würde man dann bei Wiedereröffnung der Betriebe den Brauereien mit Reinzuchtanlagen eine entsprechende Zeit vorher die Inbetriebsetzung ihrer Reinzuchtanlagen ermöglichen, so könnten diese auch andere Brauereien mit reiner Hefe versorgen. R. Heuß.

Moufang, E. Haltbarkeit und Zusammensetzung der Bierwürze. Allg. Zeitschr. f. Bierbrauerei u. Malzfabrikation **44**, 1917, S. 183.

Eine gute Qualität des Malzes gewährleistet nicht ohne weiteres auch ein gutes und besonders haltbares Bier. Es spielen hier zweifellos noch andere Faktoren mit. Besonders natürlich das Maischverfahren, das die Extraktbestandteile des Malzes in Lösung bezw. in richtig abgebaute Form bringt und die größere oder kleinere Widerstandsfähigkeit des Bieres gegen bierschädliche Organismen mitbedingt. Für ein besonders wichtiges Moment in den Phasen des Maischprozesses hält Verfasser das Kochen und zwar weniger nach der Art an sich (Dampf- oder Feuer- bezw. Druckkochung), sondern nach der Art und Weise, wie der Kochprozeß durchgeführt wird. Zweifellos kann jede Art der Kochung in ungenügender Weise durchgeführt werden. In Fällen erkannter ungenügender Kochwirkung wurde bei Steigerung des Kocheffektes in vielen Fällen gesteigerte Besserung in der Haltbarkeit (geringere Anfälligkeit gegen Organismen) festgestellt. Verfasser erwähnt in diesem Zusammenhang ein besonders deutliches Beispiel aus der Praxis. Die Trübwürzen eines Betriebs hielten nämlich gewöhnlich 36 bis

48 Stunden — die Proben wurden der Trubpresse entnommen und bei 20 bis 25° C lose bedeckt zur Beobachtung aufgestellt —, nach Abänderung des Arbeitsverfahrens besonders mit Rücksicht auf das Würze- bezw. Maischekochen, stieg die Haltbarkeit der Proben auf das Doppelte, ja auf das Dreifache. R. Heuß.

Zikes, H. Pektinstoffe. Allg. Zeitschr. f. Bierbrauerei u. Malzfabrikation **45**, 1917, S. 191.

Bei der infolge der Malzknappheit nötig gewordenen Benutzung vieler Ersatzstoffe macht die Abläuterung der Würze infolge des hohen Gehaltes dieser Substanzen an Pektinstoffen große Schwierigkeiten. Die Pektinstoffe bilden wie die Zellulose eine der wesentlichsten und am meisten verbreiteten Grundsubstanzen der pflanzlichen Zellmembrane im weiteren Sinne des Wortes, sie befinden sich in der Außenhaut, der sogenannten Mittellamelle und sind kolloidaler Natur. Sie sind chemisch noch nicht erfaßt trotz vielfacher Bemühungen, stehen den Pflanzenschleimen und Gummiarten sehr nahe, sind aber als besondere Gruppe von diesen abzutrennen und nach Tollens als Oxypflanzenschleime zu bezeichnen. Ehrlich hat in jüngster Zeit als wichtigsten Bestandteil der Pektinstoffe d-Galakturonsäure, isomer mit der im Tierreich weit verbreiteten Glukuronsäure, festgestellt. Ehrlich ging bei seinen Untersuchungen zunächst von Rübenmark aus, beschäftigte sich später aber auch mit anderen Pektinen von Früchten, Kräutern, Blättern usw. und fand jedesmal die gleiche Zusammensetzung. Er führt dabei das Pektin als Kalzium-Magnesiumsalz einer komplexen Anhydro-Arabino-Galaktose-Methoxytetragalakturonsäure auf, bei dem die Arabinosegruppe fester an das Molekül gebunden erscheint. R. Heuß.

Kühn, O. Über biologische Wasseruntersuchungsmethoden. Allg. Zeitschr. f. Bierbrauerei u. Malzfabrikation **44**, 1917, S. 192.

Die früher gebräuchlichen Wasseruntersuchungen betonten zu sehr die rein wissenschaftliche Seite und wichen besonders in einem von den natürlichen Bedingungen ab: die Untersuchung wird mit geringen Mengen Würze bezw. Bier und Wasser ausgeführt, wodurch verschiedene Untersuchungsfehler bedingt werden. H. Will hat seinerzeit nachdrücklich auf diese den Methoden von Hansen, Wichmann, Schlesinger anhaftenden Nachteile hingewiesen. Nach Holm kann man ohne Änderung der spezifischen Widerstandsfähigkeit der Untersuchungsflüssigkeit auf 15 ccm Würze von zirka 14° Balling $^1/_8$ ccm und auf 15 ccm Lagerbier ungefähr $^1/_2$ ccm Wasser zusetzen. Verfasser schlägt deshalb vor, die Wasseruntersuchungen mit größerem Mengen anzustellen. Er hat bei eigenen Versuchen gemäß dem Befund von Holm 120 ccm Würze bezw. Bier verwendet und dabei stets befriedigende Resultate erhalten. Anscheinend wird auf diese Weise — worauf auch

H. Zikes schon hingewiesen hat — nicht nur eine Verringerung der Versuchsfehler, sondern auch ein gleichmäßigeres Untersuchungsergebnis im Vergleich zu obengenannten Methoden erzielt. R. Heuß.

Moufang, E. Wie weit läßt sich die Extraktausbeute eines Malzes brautechnisch steigern? (Maximalverfahren.) Allg. Zeitschr. f. Bierbrauerei u. Malzfabrikation **45**, 1917, S. 209.

Verfasser versucht an Hand einiger Versuchsergebnisse vergleichend darzutun, in welchem Maße sich die Extraktausbeutung eines gegebenen Malzes praktisch steigern läßt, ohne dabei die Qualität des entstehenden Bieres zu gefährden. Die Extraktausbeutung eines Malzes ist mit dem Maischprozeß beendigt; jede Abläuterungsfrage behandelt die Trennung des gelösten Extraktanteils von dem unlöslichen Teil der Maische. Ein spezielleres Abläuterungsverfahren kann gegenüber einem andern grundsätzlich nie mehr absoluten Extrakt gewährleisten, es kann sich höchstens um eine Kürzung der Abläuterungszeit handeln unter der Voraussetzung, daß in allen Fällen die Abläuterung praktisch restlos geschieht. Verfasser hat in seinem Laboratorium ein Verfahren ausgearbeitet, das maximale Ausbeute gewährleisten soll. Um die Wirkung des Verfahrens auf die Steigerung der Extraktausbeute deutlicher hervortreten zu lassen, werden bei den Untersuchungen zugleich das Kongreß- und Vormaischverfahren mit Eiweißrast in ihren Ergebnissen mit angeführt. Nach Vorversuchen durchgeführte Sude mit dunklem Malz ergaben 79—80% Gärkellerausbeute in der Trockensubstanz. Die Biere selbst waren in jeder Beziehung einwandfrei, wenig empfindlich gegen Infektion, gut schaumhaltig, vollmundig und rein im Geschmack. Verfasser will später an anderer Stelle ausführlich über das Verfahren und weitere Versuche in der Praxis berichten. R. Heuß.

Cluß, A. Wieder ein neues Malzersatzmittel, die Quecke! Allg. Zeitschr. f. Bierbrauerei u. Malzfabrikation **45**, 1917, S. 235.

In neuerer Zeit sucht man als Malzersatzmittel der Not gehorchend nicht mehr bloß jene landwirtschaftlichen Produkte heranzuziehen, die Stärke und Zucker in größeren Mengen enthalten, sondern richtet Augenmerk auch auf Pflanzen bezw. Pflanzenteile mit geringerem Gehalt an obengenannten Kohlehydraten. Dieses Bestreben kann naturgemäß leicht auf Abwege führen, da es schließlich doch nicht nur auf den allerdings unerläßlichen Gehalt an Kohlehydraten, sondern wesentlich auch auf den Geschmack des aus jenen Produkten entstehenden Getränkes ankommt. Die Queckenwurzel wurde früher wenig beachtet und verwendet. Versuche des Verfassers, daraus Bier zu erzeugen, fielen wenig befriedigend aus, und zwar 1. weil der Queckenauszug eine mißfarbig grünlich-dunkle Brühe lieferte und deshalb für die Herstellung lichter oder auch nur goldfarbiger Biere kaum

in Frage kommen kann; 2. weil dieser Auszug eine sehr schlechte Vergärung, verbunden mit deutlich erkennbarer Degenerierung der Hefe, gab und 3. weil sowohl die Würze, wie auch das vergorene Dekokt einen rauhen, widerlich bitteren, lange an Zunge und Gaumen anhaftenden Geschmack zeigte. R. Heuß.

Zikes, H. Die Quecke. Allg. Zeitschr. f. Bierbrauerei u. Malzfabrikation **45**, 1917, S. 236.

Die Quecke (Triticum repans L.) ist ein häufig vorkommendes Unkraut mit reichverzweigtem Rhizom und vielen Ausläufern. Letztere werden von den Wurzeln und Blattscheiden gesäubert, gewaschen und gelangen geschnitten als Quecken- oder Graswurzeln in den Handel. Sie enthalten $2^1/_2$—$3^1/_2$ % Zucker, etwa 8 % Triticin. Dieser inulinähnliche Körper von der Formel $6(C_6H_{10}O_5)$ stellt gereinigt ein weißes, glänzendes, hygroskopisches, zerfließliches, leicht lösliches Pulver dar, das selbstverständlich nicht direkt gärungsfähig ist und auch Fehlingsche Lösung kaum reduziert. Durch Salpetersäure wird es zu Oxalsäure oxydiert und liefert beim Kochen mit Wasser oder verdünnten Säuren, sowie unter dem Einfluß von Diastase Fruchtzucker. Bei der Frage der Verwendung der Quecke in der Brauerei ist entscheidend, ob nicht neben diesen Kohlehydraten noch andere, auf Geschmack und Bekömmlichkeit ungünstig einwirkende Extraktivstoffe vorhanden sind. R. Heuß.

Rudolf, C. Über Pyricit und seine Wirkung auf Mikroorganismen. Allg. Zeitschr. f. Bierbrauerei u. Malzfabrikation **45**, 1917, S. 241.

Jedes Desinfektionsmittel äußert in seiner Wirkung eine mehr oder minder spezifische Wirkung. Man unterscheidet nach O. Löw allgemeine (auf alle lebenden Organismen wirkende) und spezielle Gifte, welch letztere nur auf bestimmte Organismenarten oder -gruppen einwirken. Andere Forscher bilden aus den Giften rein chemische Gruppen, oder fassen sie nach physiologischen Gesichtspunkten zusammen. Das Desinfektionsmittel Pyricit besteht nach dem Ergebnis der chemischen qualitativen Analyse der Hauptsache nach aus Natrium, Schwefelsäure, Borsäure und Fluorwasserstoffsäure mit Spuren von Eiweißverbindungen. Quantitativ stellte man Borfluornatrium, Natriumfluorid und Natriumbisulfat fest. Man prüfte das Mittel in seiner Einwirkung auf eine Reihe von Organismen. Die Desinfektionsversuche ergaben, daß Pyricit auf alle untersuchten Organismen sehr stark aseptisch und desinfizierend, besonders gegen Schimmelpilze wirkt. Bei den Versuchen kamen folgende Organismen zur Verwendung:

1. Sacch. cerevisiae,
2. Saccharomycodes Ludwigii Hansen,
3. Bacterium aceti Kützing,

4. Bact. mesentericus vulgatus,
5. Cladosporium herbarum,
6. Penicillium italicum Wehmer.

Bei 50° C war die Wirkung kräftiger als bei niederen Temperaturen. Die letale Dosis lag für 10 g Hefe zwischen 0,5 und 0,25 g Pyricit.

R. Heuß.

Zikes, H. Über die biologische Beschaffenheit künstlicher Mineralwässer und Limonaden. Allg. Zeitschr. f. Bierbrauerei und Malzfabrikation **44**, 1917, S. 271.

Infolge des Mangels an geeigneten Braumaterialien werden die Brauereibetriebe jetzt vielfach für andere Zwecke ausgenutzt, besonders häufig zur Herstellung von Erfrischungsgetränken wie Sodawasser, Selterswasser oder Limonaden. Bei der Darstellung solcher Genußmittel muß natürlich die gleiche Reinlichkeit herrschen im Betriebe wie bei der Erzeugung von Bier, es dürfen nur biologisch einwandfreie Apparate, besonders aber auch nur reines Wasser verwendet werden, um das Aufkommen von schädlichen Organismen zu vermeiden. Es fand z. B. Riegler

Bakterium	fluorescens liquefaciens	in	76
„	„ n. c.	„	35
„	aquatile odorans	„	21
„	chrysogloca	„	15
„	aquatile commune	„	13
„	arborescens	„	10
„	gasoformans	„	10
Micrococcus	candicans	„	24
„	sulfureus	„	15
„	roseus	„	13

Prozent der untersuchten Wässer, ein Beweis, wie sehr Reinlichkeit not tut. Oft ist auch eine wesentliche Zunahme der organischen Substanz als Folge nachträglicher Verunreinigung feststellbar. Bessere biologische Untersuchungsergebnisse als bei künstlichen Wässern erhält man in der Regel bei Limonaden infolge ihres Gehalts an freien Säuren, wie Weinzitronen-Apfelsäure, die das Aufkommen von Bakterien unterdrücken. R. Heuß.

Thausing, J. Das österreichische Einheitskriegsbier und dessen Erzeugung. Allg. Zeitschr. f. Bierbrauerei u. Malzfabrikation **44**, 1917, S. 291.

Für die Erzeugung des geringgrädigen Bieres behalten alle jene Grundsätze Geltung, die bei der Erzeugung des Normalbieres zu beachten sind. Ihre Durchführung erfordert jedoch besondere Fachkenntnis und Umsicht der Leitung, auch wird eine größere Fabrikationsfreiheit als bisher unumgänglich nötig sein. Je leichter das Bier wird, desto größer werden die Fabrikations-

schwierigkeiten. Die größte Schwierigkeit wird in der Unmöglichkeit liegen, Samenhefe in genügender Menge und von gewünschter Güte zu ernten, da die Hefe in den dünnen Würzen bald zu Entartung neigt. Zur Kräftigung der Hefe wird es sich empfehlen, sie von Zeit zu Zeit in stärkeren Würzen zu führen, oder sich wenigstens des bekannten „Herführens“ der Hefe zu bedienen. Bei der Bemessung der Hefengabe darf nicht zu sehr gespart werden, da die Würze rasch angären soll, um einen wirksamen Schutz gegen das Überhandnehmen von bierschädlichen Organismen zu bieten. Infolgedessen darf auch die Anstelltemperatur nicht zu tief gewählt werden. Öftere Einführung von Reinhefe ist unerläßlich, außerdem sind Anstellgefäße empfehlenswert. Zur Einleitung einer kräftigen Nachgärung wird das Bier „grün“ gefaßt. Je leichter das Bier ist, desto wichtiger, aber auch um so schwieriger ist dessen Anreicherung mit Kohlensäure. Die wichtigsten Bedingungen dafür sind: Kräftig einsetzende und anhaltende Nachgärung und kalte Lagerung des Bieres. Ist der Druck an den Spundapparaten zu gering, dann muß alsbald durch Aufkräusen nachgeholfen werden. Auf die richtige Vergärung ist großer Wert zu legen, nur ein weitvergorenes Bier wird geschmacklich befriedigen und entsprechend haltbar sein. Außerdem muß das Bier umso früher zum Ausstoß kommen, je geringgrädiger es ist, da die Haltbarkeit naturgemäß nur eine beschränkte ist. Die Hopfengabe ist nicht zu übertreiben, da sonst leicht eine aufdringliche Bittere des Geschmacks entsteht, die besonders bemerkbar wird, wenn das Bier schal wird. Die Menge des Hopfens muß im umgekehrten Verhältnis zur Höhe der Bierfarbe stehen, d. h. je dunkler das Bier, desto weniger Hopfen. Das bei der Darstellung von geringgrädigem Bier verwendete Malz soll gut ausgedarrt sein, es darf keine weitgehende Auflösung besitzen. Selbstverständlich wird man auf die Erzielung einer möglichst hohen Malzausbeute achten.

R. Heuß.

Zikes, H. Über den Einfluß des Luftdrucks auf die Gärung. Allg. Zeitschr. f. Bierbrauerei u. Malzfabrikation **45**, 1917, S. 299.

Verfasser hat schon früher gemeinsam mit V. Koudelka nachgewiesen, daß der Endvergärungsgrad bei Gärverschluß durchschnittlich höhere Werte aufweist als bei Watteverschluß, daß aber im letzten Fall mehr Kohlensäure in gleichen Zeiten abgegeben wird. Anscheinend wird die Hefe bei Gärverschluß zu höheren Leistungen gezwungen, um sich den für ihr Gedeihen notwendigen Sauerstoff zu beschaffen. Bei den Versuchsgefäßen mit Watteverschluß machte man die Beobachtung, daß die Kohlensäureabnahme von Tag zu Tag nicht gradatim fällt, sondern Unregelmäßigkeiten, manchmal sogar eine Zunahme in der Kohlensäureentweichung aufweist. In der Zwischenzeit wurde nun von A. Rippel die interessante Beobachtung gemacht, daß bei schwach vor sich gehenden Gärungen der Gärungsverlauf von

dem Atmosphärendruck, also vom Einfluß des Barometerstandes abhängig ist. Bei hohem Barometerstand findet eine geringere, bei niederem eine höhere Kohlensäureabgabe statt. Mit dieser Feststellung finden auch die von Zikes seinerzeit festgestellten, aber nicht ohne weiteres erklärbaren Schwankungen in der Kohlensäureabgabe bei Watteverschluß ihre Erklärung. Bei Gärverschluß kamen diese Schwankungen wegen der Expansionskraft der Kohlensäure im Innern der Kölbchen nicht vor. R. Heuß.

Jalowetz, E. Über die Quecke. (Mitteilungen a. d. Institut f. Gärungsindustrie in Wien.) Die Brau- u. Malzindustrie **18**, 1917, S. 186.

Das letzte Malzersatzmittel ist die sog. Queckenwurzel, das Rhizom von Triticum repens L. aus der Familie der Gramineen, eine Pflanze, die anscheinend schon früher ab und zu in der Gärungsindustrie Verwendung gefunden hat. Neben Zucker und Triticin — ein Polysaccharid — fand man in der Queckenwurzel Kaliumoxalat, Gummi (Schleim), Inosit und Mannit. Die Asche des Rhizoms beträgt durchschnittlich 4,5 % und zeigt folgende Hauptbestandteile:

32,5 % SiO_2	16,3 % $Fe_2O_3 + Al_2O_3$
9,7 % Na_2O	7,3 % CaO.

Die Extraktausbeute des Rhizoms dürfte etwa 20 % betragen. Verfasser ist der Ansicht, daß auf Grund der komplizierten Verarbeitungsmöglichkeit, der geringen Extraktausbeute und des eigenartigen Geruchs und Geschmacks der Würzen wenig Aussicht besteht, daß sich die Quecke allein oder in Verbindung mit einem kleinen Malzzusatz in der Brauindustrie Eingang verschaffen wird. R. Heuß.

Jalowetz, E. Queckenbier. Mitteilungen a. d. Institut f. Gärungsindustrie in Wien. (Vorläufige Mitteilung.) Die Brau- u. Malzindustrie **18**, 1917, S. 187.

Als letztes Malzersatzmittel taucht neuerdings die Quecke auf, die besonders der Direktor des Instituts für Spiritusindustrie in Prag, Anton Nydole, als Notsurrogat in der Brauerei einzuführen bestrebt ist. Verfasser ließ an seinem Institut Laboratoriumsversuche mit Quecke durchführen, die jedoch vorläufig zu keinem befriedigenden Ergebnis führten. Die Extraktion gestaltete sich schwierig, das vergorene, haltbare Produkt zeigte nur wenig Schaum, der Geruch war süßlich, nicht angenehm und der Geschmack fremdartig und zusammenziehend. Die Versuche sollen fortgesetzt werden.

R. Heuß.

Bokorny, Th. Verhältnis von Zuckervergärung und Zuckerassimilation. Allg. Brauer- u. Hopfenzeitung **57**, 1917, S. 477.

Die Frage, wie viel von dem der Hefe zur Verfügung stehenden Zucker vergoren und wie viel assimiliert ist, hat schon eine Reihe von Forschern,

wie Pasteur, Märker, Ehrlich beschäftigt. Verfasser stellte selbst Versuche an, die dartun sollten, ob eine Steigerung der Zuckerernährung dadurch möglich ist, daß man der Hefe die Zuckermenge nicht auf einmal darbietet, sondern in mehreren Portionen nacheinander. Es zeigte sich, daß durch diese Maßnahme tatsächlich eine Steigerung der Zuckerernährung möglich ist. Was die Assimilation des Zuckers betrifft, so ist darüber zu sagen, daß die neben dem Zucker der Hefe noch gebotene Art der Stickstoffquelle von wesentlichem Einfluß ist. R. Heuß.

Wiegmann, D. Die Nährstoffausnützung der Gerste bei ihren wichtigsten Verwendungsarten unter besonderer Berücksichtigung der für die Ernte 1916 gegebenen Verhältnisse. Allg. Brauer- u. Hopfenzeitung **57**, 1917, S. 537.

Unter diesem Titel erschien eine Broschüre von H. Trillich, die sich mit der Verwendung von Gerste zur Herstellung von Graupen und Mehl, zur Schweinefütterung, zum Bierbrauen und zur Herstellung von Malzkaffee befaßt. Dabei wird in einseitiger Weise dem Malzkaffee das höchste Lob gespendet, während die Brauindustrie eine durchaus unzutreffende Würdigung erfährt. Insbesondere legt Trillich, in Verkennung des heutigen hohen Standes der Brauindustrie, seinen Berechnungen die auffallend niedere Sudhausausbeute von knapp 68% zugrunde. Wiegmann kritisiert die Auslassungen Trillichs entsprechend und stellt zum Schluß die Ausnützungszahlen der folgendermaßen zusammen. Es beträgt die Ausnützung der 3328 Wärmeeinheiten der Gerste nach Trillich in Prozenten:

	Mit	Ohne
	Abfallfütterung	
bei Malzkaffee	47,0	41,0
bei der Bierbrauerei	57,9	54,4
Nach Wiegmanns Berechnungen:		
beim Nürnberger Malzkaffee . . .	43,2	41,4
beim städtischen „ . . .	39,4	36,6
bei der Bierbrauerei	61,9	58,8

R. Heuß.

Bokorny, Th. Zur Ernährungsphysiologie von Alkoholen und Säuren bei Hefen und anderen verbreiteten Pilzen. Allg. Brauer- u. Hopfenzeitung **57**, 1917, S. 747.

Unter den bei der Hopfengärung regelmäßig auftretenden Produkten befinden sich Alkohole und Säuren. Über das Verhalten von Alkoholen als Ernährungsquelle trifft wohl Loew das Richtige, wenn er behauptet, daß mehrwertige Alkohole besser sind als die entsprechenden einwertigen und ferner, daß bei einwertigen Alkoholen der Fettreihe der Nährwert mit

steigender Anzahl von C-Atomen abnimmt. Methylalkohol beispielsweise ist besser als Amylalkohol. Von Säuren stellte man bei der alkoholischen Gärung bisher fest: Ameisensäure, Essigsäure, Propionsäure, Buttersäure, Baldriansäure, Kapronsäure, Kaprinsäure, Kaprylsäure, Pelargonsäure, Milchsäure, Bernsteinsäure. Alle Säuren wirken nach den Untersuchungen des Verfassers bei einem gewissen Prozentsatz verzögernd auf die Hefengärung. Die Grenze der Wirksamkeit liegt jedoch ziemlich hoch. Ameisen- und Oxalsäure sind am schädlichsten.

Verfasser hat außer Alkoholen und Säuren auch einige Basen, Kali und Ammoniumhydroxyd, in ihrer Wirkung auf Hefen und andere Pilze geprüft und festgestellt, daß sie wirksamere Gärgifte sind als die Säuren.

R. Heuß.

Bokorny, Th. Spaltung von Benzol- und Eiweißverbindungen durch die lebende Hefen- und Pilzzelle. Allg. Brauer- u. Hopfenzeitung **57**, 1917, S. 869 u. 885.

Es ist zu unterscheiden zwischen Spaltungen, die den Benzolkern selbst betreffen und solchen, die nur in einer Abtrennung von Seitenketten bestehen. Letztere Art geschieht natürlich leichter als erstere. Meist führt die Spaltung zur wenigstens teilweisen Verwendung der Spaltungsprodukte im Ernährungsbetrieb der Zelle. Entstehen schädliche Stoffe, dann hört die weitere Einwirkung infolge Absterbens der Zellen bald auf. Tote Zellen können keine Spaltung mehr ausüben, sofern nicht etwa Fermente (Enzyme) noch in aktivem Zustand verblieben sind, die eine Spaltung gewisser Stoffe noch zustande bringen. (Hefenpreßsaft, Azetondauerhefe usw.) Fermente, die den Benzolkern spalten, sind nicht bekannt, auch ist die Art der Wirksamkeit der Fermente noch nicht geklärt. Noch dunkler als der Gärungsvorgang ist der Assimilationsvorgang bei Verwendung der zahlreichen, zur Ernährung von Pflanzenzellen tauglichen Organstoffe. Es ist beispielsweise nicht bekannt, was vor sich geht, wenn der Benzolkern durch das lebende Protoplasma gespalten wird, z. B. wenn Phenol zur Kohlenstoffernährung der Zelle dient. Verfasser geht in seiner Mitteilung deshalb nur auf die anscheinend wenig bekannte Tatsache einer protoplasmatischen Spaltung von Benzolkörpern ein und stellt die einschlägigen Tatsachen tabellarisch zusammen. Aus den aufgeführten Beispielen von Benzolverbindungen ohne nährende Seitenkette geht zweifellos hervor, daß manche Pilzzellen den Benzolkern spalten und verwenden. Hat das Nährsubstrat eine nährende Seitenkette, dann kann die Ernährung auf Abspaltung dieser Seitenkette beruhen. Dies ist z. B. denkbar bei der Mandelsäure oder bei der Salizylsäure.

Bei der Spaltung der Eiweißstoffe entsteht eine große Anzahl von Spaltungsprodukten. Man findet davon erwähnt: Leucin, Glutamin, Tyrosin, Asparaginsäure, Cystin, Serin, Prolin, Phenylalanin, Lysin, Histidin, Arginin,

Tryptophan, Glykokoll usw. in wechselnder Menge. Fraglich ist nun, ob die Spaltungsprodukte im Eiweißmolekül präformiert sind und zuerst als Vorstufe die entsprechenden Aminosäuren entstehen müssen. Vom physiologischen Standpunkt aus ist dies nicht sehr wahrscheinlich. R. Heuß.

Bokorny, Th. Einige weitere Beobachtungen über Hefenvermehrung. Allg. Brauerei- u. Hopfenzeitung **56**, 1917, S. 1009 u. 1025.

Vielfach wird die Ansicht vertreten, daß Traubenzucker für Hefe keine geeignete Kohlen stoffquelle bilde, auch frühere Versuche des Verfassers führten zu dem an sich nicht recht glaubhaft erscheinenden Resultat. Neue, darauf vom Verfasser unternommene Versuche, ließen bald erkennen, daß bei den früheren Versuchsreihen das Verhältnis der Hefengabe zu der Menge angewandten Zuckers nicht günstig war und den negativen Ausfall der Versuche veranlaßt hatte. Bei den neuen Versuchen erhielt man einwandfreie Vermehrung der Versuchshefe bei Anwendung von Traubenzucker als einziger Kohlenstoffquelle. Die diesmal erwähnten Versuche des Verfassers laufen der Hauptsache nach auf eine Gewinnung von Hefe aus Nährflüssigkeiten mit beträchtlichen Zuckermengen hinaus, die jetzt aber nicht verfügbar sind. Die Zuckerverwendung für Hefenfabrikation bildet gegenwärtig eine der Hauptschwierigkeiten für die Massenerzeugung. Verfasser regt die Frage an, ob es nicht angängig erscheint, die Ablaugen der Sulfit-Zellulosefabriken, die Mannose, Galaktose, Xylose enthalten, nach entsprechender Entgiftung und unter Auswahl der geeigneten Hefenrasse zur Gewinnung von Hefe in großem Maßstab heranzuziehen. R. Heuß.

Rothenbach, F. Prüfung einer älteren Fabrikanlage auf die Möglichkeit der Fortsetzung des Betriebs unter den augenblicklich ungünstigen Verhältnissen. Die deutsche Essigindustrie **21**, 1917, S. 101.

Verfasser berichtet über die Prüfung einer älteren Fabrikanlage mit 18 Essigbildnern und die zur Fortsetzung eines einwandfreien und ungestörten Betriebs getroffenen Maßnahmen. R. Heuß.

H. Wüstenfeld. Die Verwendung von Kurvenzeichnungen bei der Betriebskontrolle von Essigfabriken. Die deutsche Essigindustrie **21**, 1917, S. 93.

Zu dem unentbehrlichen Inventar einer Essigfabrik gehört vor allem das Betriebskontrollbuch. Darin sollten täglich Aufzeichnungen über die Temperaturverhältnisse der Bildner und des Fabrikraumes, über die Menge des täglichen Aufgusses und den Prozentgehalt an Essigsäure und Alkohol, ab und zu auch Angaben über die Säurestärke des gewonnenen Essigs und dessen Prozentgehalt an unverarbeitetem Restalkohol enthalten sein. Von Zeit zu Zeit sollen sich auch die Resultate der Einzeluntersuchungen aller

Bildner darin vorfinden, um einzelne Apparate mit ungenügenden Leistungen, die das Gesamtergebnis der Fabrik beeinträchtigen, herauszufinden. Nachgewiesenermaßen ermüden Zahlenreihen bei längerer Durchsicht, auch fehlt ihnen oft die wünschenswerte Übersichtlichkeit. Verfasser hat daher seit etwa einem Jahre neben der Zahl die Kurve zur Gewinnung eines besseren Überblicks über die Betriebsergebnisse eingeführt. Die Zweckmäßigkeit der Verwendung der Kurve geht aus den Ausführungen des Verfassers deutlich hervor. R. Heuß.

Windisch, W. und Foerster, H. Über die angebliche „Hemizellutase" und ihre Nutzbarmachung beim Maischen zwecks Steigerung der Extraktausbeute. Wochenschr. f. Brauerei **32**, 1915, S. 253.

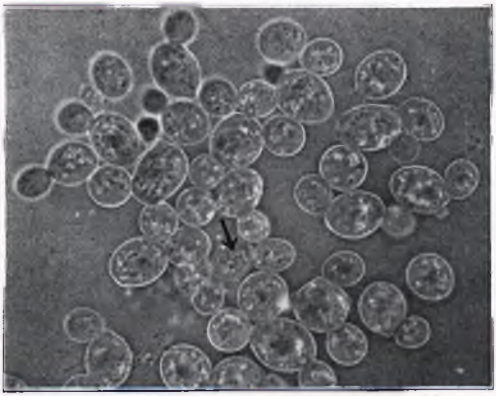
Vor kurzem veröffentlichte Ch. B. Davis in den „Letters on Brewing" eine Abhandlung mit dem Titel „Über ein stärkebildendes Enzym aus Malz: Seine Wirkung auf die Hemizellulosen und seine Nutzbarmachung in der Brauerei". Der Inhalt dieser Veröffentlichung, von der Windisch eine Übersetzung in der „Wochenschrift für Brauerei" brachte, bestand in einer Mitteilung des Verfassers von der Isolierung eines Enzyms aus Malz, das Hemizellulose in Stärke umzuwandeln vermöge. Die günstigste Wachstumstemperatur wurde mit 82,5 °C angegeben. Die Getreidearten Gerste, Mais, Reis, auch Malz enthalten Hemizellulosen in beträchtlichen Mengen, die beim gewöhnlichen Maischverfahren ungelöst in den Trebern verbleiben. Durch längeres Einhalten der Temperatur von ca. 80 °C sollten diese Stoffe in Stärke verwandelt werden, die bei darauffolgender Behandlung mit diastasehaltigem Maischmaterial als normaler Würzeextrakt gewonnen werden könnten und so die Extraktmenge erhöhen würden. Davis stellte eine Mehrausbeute von mindestens $3^1/_2\,^0/_0$ über die Laboratoriumsausbeute und $8\,^0/_0$ mehr Bier in Aussicht, als bei dem gewöhnlichen Verfahren zu erwarten sei.

Verfasser machten sich sofort an eine Nachprüfung dieser verheißungsvollen amerikanischen Entdeckung, indem sie im Laboratorium und im Betrieb entsprechende Versuche durchführten und auch andere Praktiker zur Durchführung solcher Versuche veranlaßten. Auf Grund des so zusammengekommenen Materials sehen sich die Verfasser jetzt zu der Mitteilung veranlaßt, daß sich die Angaben des Amerikaners nach keiner Richtung hin bestätigt haben. Das Ganze bezeichnen sie als eine große Täuschung und Enttäuschung. Von einer nennenswerten Wirkung der „Hemizellutaserast" war in keinem Fall die Rede.

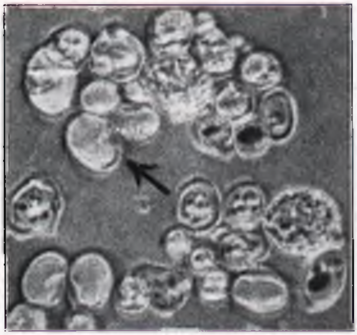
R. Heuß.



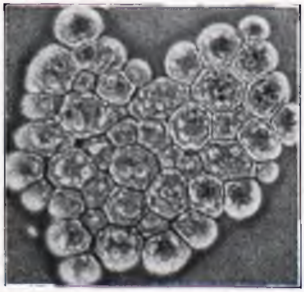
1



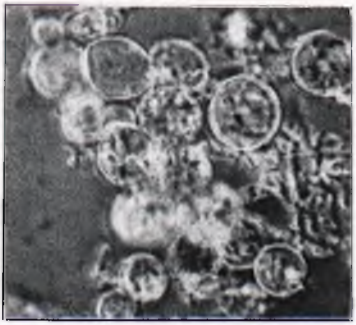
2



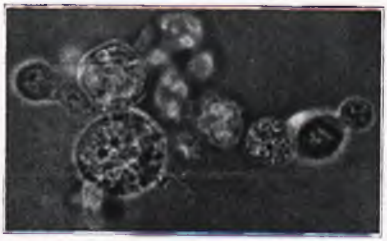
3



4



5



6



7

Aufnahmen von P. Lindner. Sämtliche Bilder 1000fach vergr.

Verfettung von Kulturhefen auf Würzeagar 1 und in mineralischer Nährlösung 2—7.
Erläuterung im Text S. 80 u. ff.

Bekanntmachung

Die **Zwischenscheine** der **IX. Kriegsanleihe**

für die **4½% Schatzanweisungen** können vom

4. Juni ab,

für die **5% Schuldverschreibungen** vom

23. Juni d. Js. ab

in die endgültigen Stücke mit Zinsscheinen umgetauscht werden.

Der Umtausch findet bei der **„Umtauschstelle für die Kriegsanleihen“, Berlin W 8, Behrenstraße 22,** statt. Außerdem übernehmen sämtliche Reichsbankanstalten mit Kasseneinrichtung bis zum **5. Dezember 1919** die kostenfreie Vermittlung des Umtausches. Nach diesem Zeitpunkt können die Zwischenscheine nur noch unmittelbar bei der „Umtauschstelle für die Kriegsanleihen“ in Berlin umgetauscht werden.

Die Zwischenscheine sind mit Verzeichnissen, in die sie nach den Beträgen und innerhalb dieser nach der Nummernfolge geordnet einzutragen sind, während der Vormittagsdienststunden bei den genannten Stellen einzureichen; Formulare zu den Verzeichnissen sind bei allen Reichsbankanstalten erhältlich.

Firmen und Kassen haben die von ihnen eingereichten Zwischenscheine rechts **oberhalb** der Stücknummer mit ihrem Firmenstempel zu versehen.

Von den Zwischenscheinen **der früheren Kriegsanleihen** ist eine größere Anzahl noch immer nicht in die endgültigen Stücke umgetauscht worden. Die Inhaber werden aufgefordert, diese Zwischenscheine in ihrem eigenen Interesse möglichst bald bei der **„Umtauschstelle für die Kriegsanleihen“, Berlin W 8, Behrenstraße 22,** zum Umtausch einzureichen.

Berlin, im Juni 1919

Reichsbank-Direktorium

Havenstein v. Grimm